

No title available**Publication number:** JP2002511778T**Publication date:** 2002-04-16**Inventor:****Applicant:****Classification:****- International:** G01N21/64, A61B5/00; A61B10/00; A61K49/00; G01N21/17; G01N21/64; A61B5/00; A61B10/00; A61K49/00; G01N21/17; (IPC1-7): A61K49/00; G01N21/17; A61B10/00; G01N21/64**European:****Application number:** JP19980534930T 19980206**Priority number(s):** US19970039318P 19970207; WO1998US02354 19980206**Also published as:** EP1011422 (A1) EP1011422 (A4) EP1011422 (A0) EP1011422 (B1) ES2232935T (T3)[more >>](#)[Report a data error here](#)

Abstract not available for JP2002511778T

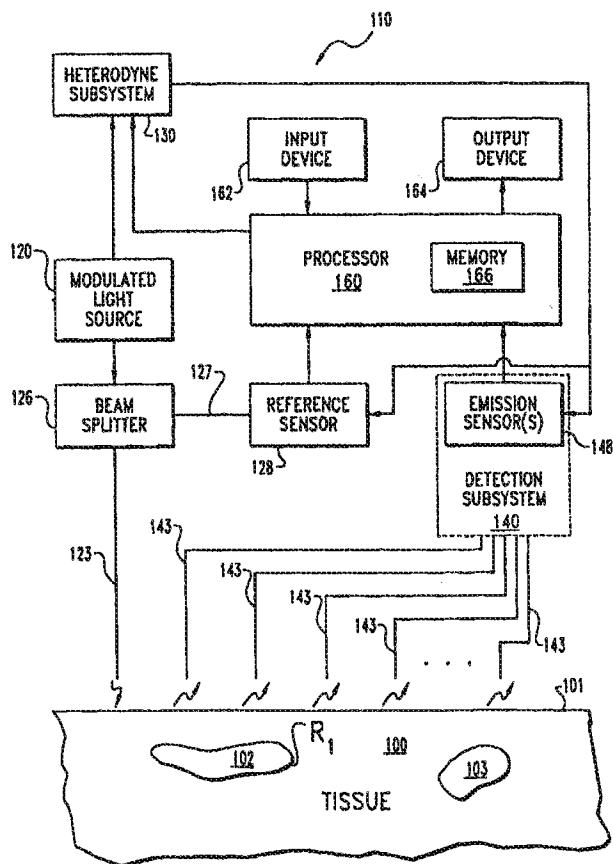
Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(51) International Patent Classification ⁶ : A61B 5/00		A1	(11) International Publication Number: WO 98/34533
(21) International Application Number: PCT/US98/02354		(43) International Publication Date: 13 August 1998 (13.08.98)	(74) Agents: PAYNTER, L., Scott et al.; Woodard, Emhardt, Naughton, Moriarty & McNett, Bank One Center/Tower, Suite 3700, 111 Monument Circle, Indianapolis, IN 46204 (US).
(22) International Filing Date: 6 February 1998 (06.02.98)		(30) Priority Data: 60/039,318 7 February 1997 (07.02.97) US	(81) Designated States: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
(63) Related by Continuation (CON) or Continuation-in-Part (CIP) to Earlier Applications US 60/039,318 (CIP) Filed on 7 February 1997 (07.02.97) US 08/702,060 (CIP) Filed on 23 August 1996 (23.08.96)		(71) Applicant (for all designated States except US): PURDUE RESEARCH FOUNDATION [US/US]; Office of Technology Transfer, Room 328 ENAD, Purdue University, West Lafayette, IN 47907 (US).	Published <i>With international search report.</i>
(72) Inventors; and (75) Inventors/Applicants (for US only): SEVICK-MURACA, Eva [US/US]; 7650 East 100 North, Lafayette, IN 47905 (US). TROY, Tamara, L. [US/US]; 2601 Soldiers Home Road #100, West Lafayette, IN 47906 (US). REYNOLDS, Jeffrey, S. [US/US]; 5109 Stable Drive, Lafayette, IN 47905 (US).			

(54) Title: IMAGING OF LIGHT SCATTERING TISSUES WITH FLUORESCENT CONTRAST AGENTS

(57) Abstract

A system and method for non-invasive biomedical optical imaging and spectroscopy with low-level light is described. The technique consists of a modulated light source (120) coupled to tissue (100) to introduce excitation light. Fluorescent light emitted in response to the excitation light is detected with sensor (148). The AC intensity and phase of the excitation and detected fluorescent light is provided to a processor (160) operatively coupled to sensor (148). Processor (160) employs the measured emission kinetics of excitation and fluorescent light to "map" the spatial variation of one or more fluorescence characteristics of the tissue (100) and generate a corresponding image of the tissue (100) via output device (164). The fluorescence characteristic may be provided by exogenous contrast agents, endogenous fluorophores, or both. A technique to select or design an exogenous fluorescent contrast agent to improve image contrast is also disclosed.



(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表2002-511778

(P2002-511778A)

(43)公表日 平成14年4月16日 (2002.4.16)

(51)IntCl. ¹	識別記号	P 1	マーク ² (参考)
A 6 1 B 10/00		A 6 1 B 10/00	E
G 0 1 N 21/64		G 0 1 N 21/64	F
F A 6 1 K 49/00		A 6 1 K 49/00	A
G 0 1 N 21/17	6 2 0	G 0 1 N 21/17	6 2 0

検索請求 未請求 予備検索請求 有 (全 67 頁)

(21)出願番号	特願平10-534930
(22)出願日	平成10年2月6日(1998.2.6)
(35)翻訳文提出日	平成11年8月9日(1999.8.9)
(36)国際出願番号	PCT/US98/02354
(37)国際公開番号	WO98/34533
(37)国際公開日	平成10年8月13日(1998.8.13)
(31)優先権主張番号	60/039,318
(32)優先日	平成9年2月7日(1997.2.7)
(33)優先権主張国	米国(US)

(71)出願人	ザ・テキサス・エイ・アンド・エム・ユニバーシティ・システム アメリカ合衆国テキサス州77840, カレッジ・ステーション, テキサス・アベニュー 707-エイ, スイート 201, テクノロジー・ライセンシング・オフィス
(72)発明者	レイノルズ, ジエフリー・エス アメリカ合衆国インディアナ州47905, ラファイエット, ステイブル・ドライブ 5109
(74)代理人	弁理士 杜本 一夫 (外5名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 融光造影剤を用いた光散乱組織の撮像

(57)【要約】

低レベル光による非侵入式の生医学的光学撮像及び分光分析のためのシステム及び方法について開示する。本技術は、組織(100)に結合されて、励起光を導入する蛍光源(120)を備えている。励起光に応答して放出される蛍光性の光が、センサ(148)によって検出される。励起光及び検出した蛍光性の光のAC強度及び位相を、センサ(148)に結合されているプロセッサ(160)に供給する。プロセッサ(160)は、測定した励起光及び蛍光性の光の発光力学を用いて、組織(100)の1つ以上の蛍光特性の空間変動をマッピングし、出力映図(164)を介して、組織(100)の対応する画像を生成する。外因性造影剤、内因性蛍光剤、又は双方によって、蛍光特性を得ることができる。外因性蛍光造影剤を選択又は設計して、画像のコントラストを改善する技術も、開示する。

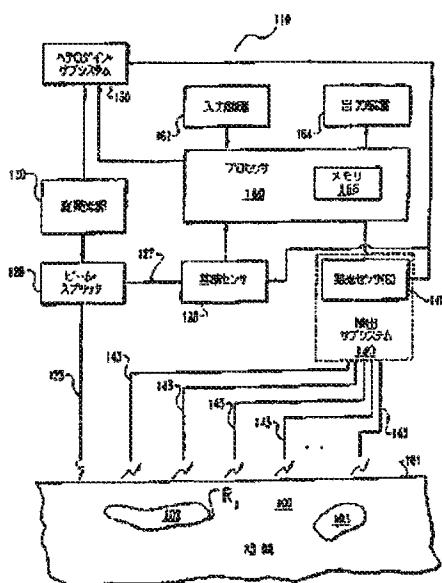


図 1

【特許請求の範囲】

1. 組織の画像を生成する方法において、

外因性蛍光造影剤を生物学的組織に導入するステップであって、前記組織が平均飛行時間で多様に光を散乱し、前記造影剤が前記平均飛行時間の約10倍以内の蛍光寿命を有する、導入ステップと、

前記組織を、時間により変動する強度を有する励起光に露出させるステップと

、

前記露出に応答して生じる前記組織からの光放出を検出するステップと、

前記組織の多様光散乱挙動をモデル化した数学的表現にしたがって、前記光放出から、前記組織の蛍光特性のレベルの空間変動をマッピングすることにより、前記組織の画像を生成するステップと

からなり、

画像のコントラスト度と蛍光取量又は蛍光寿命の少なくとも一方との所定の関係に応じて、前記造影剤が選択される
ことを特徴とする方法。

2. 蛍光造影剤の選択及び導入方法において、

蛍光造影剤を、撮像対象の組織に対する所定の飛行時間の関数として、前記組織を通過する多様散乱光の挙動をモデル化した数学的表現にしたがって選択するステップであって、前記蛍光造影剤が、前記所定の飛行時間の10倍以内の蛍光寿命を有するように選択するステップと、

前記蛍光剤を前記組織に導入するステップと

からなることを特徴とする方法。

3. 組織の画像のコントラスト強調方法において、

異なる組織の種類間で画像のコントラストを与える多数の蛍光剤の能力を評価するステップであって、該評価が、画像のコントラスト度と前記蛍光剤の蛍光寿命又は蛍光取量の少なくとも1つとの間の関係を判定することを含む、ステップと、

前記評価に基づいて、前記蛍光剤の1つを選択するステップと、

前記蛍光剤から選択した1つを、生物学的組織に導入し、該組織を通過する多

(3)

特表2002-511778

様散乱光の挙動をモデル化する数学的表現にしたがって行われる撮像を強調する
ステップと
からなることを特徴とする方法。

4. 組織の画像化方法において、

生物学的組織を第1励起光に露出させるステップと、

前記第1励起光に応答しての前記組織からの第1発光を検出するステップと、

前記検出の後蛍光造影剤を前記組織に導入するステップと、

前記導入の後、前記組織を第2励起光に露出させるステップと、

前記第2励起光に応答しての第2発光を検知するステップと、

前記第1発光に対応するデータを前記第2発光に対応するデータと比較し、前記造影剤によって与えられるコントラストを、蛍光寿命、蛍光収量、又は量子効率の少なくとも1つの関数として評価するステップと

からなることを特徴とする方法。

5. 請求項1、3、又は4のいずれかに記載の方法において、前記蛍光収量又は蛍光寿命の少なくとも一方は蛍光寿命である方法。

6. 請求項1、2、又は5記載の方法において、前記蛍光寿命が、約0.1～1.0ナノ秒の範囲であることを特徴とする方法。

7. 請求項1、2、又は5記載の方法において、前記蛍光寿命が、約0.5～5ナノ秒の範囲であることを特徴とする方法。

8. 請求項1、2、又は5記載の方法において、前記蛍光寿命が、約0.2～2ナノ秒の範囲である方法。

9. 請求項4記載の方法において、該方法は更に、前記組織を通過する多様散乱光の挙動をモデル化する数学的表現を用いて、前記第1及び第2発光を評価するステップを含むことを特徴とする方法。

10. 請求項1～3又は9のいずれかに記載の方法において、前記数学的表現が、多様散乱光の拡散方程式近似であることを特徴とする方法。

11. 請求項10記載の方法において、前記拡散方程式近似を周波数ドメイン形態で適用することを特徴とする方法。

12. 請求項2～4のいずれかに記載の方法において、該方法はさらに、前記

(4)

特表2002-511778

組織の蛍光特性のレベルの空間変動をマッピングすることにより、前記組織の画像を生成するステップを含むことを特徴とする方法。

13. 請求項1又は12記載の方法において、前記蛍光特性は、蛍光寿命、蛍光収量、又は蛍光量子効率の少なくとも1つである方法。

14. 請求項1、12、又は13のいずれかに記載の方法において、前記生成するステップが、前記励起光に対する前記光放出の変調振幅変化及び位相変化を検定するステップを含むことを特徴とする方法。

15. 請求項1、13、又は14のいずれかに記載の方法において、前記蛍光特性が蛍光寿命であることを特徴とする方法。

16. 請求項4記載の方法において、前記第1励起光の波長が、前記第2励起光に応答して前記造影剤によって放出される蛍光性の光の波長とはほぼ同一であることを特徴とする方法。

17. 請求項1又は3記載の方法において、前記数学的表現が周波数ドメインの形態であり、前記画像のコントラストが、位相シフト差又は変調比の少なくとも1つに関して提供されることを特徴とする方法。

【発明の詳細な説明】

蛍光造影剤を用いた光散乱組織の撮像

発明の背景

本発明は、異質光散乱組織の分光分析撮像に関し、更に特定すれば、組織の蛍光特性をマッピングすることによる、生体撮像に関するものであるが、これに限定される訳ではない。

病気の早期検出は、治療開始の有効性向上を約束する。近年、非観血的技法が開発され、患者の組織における生化学的变化を検出することにより、種々の疾患の確実な早期診断を行う能力が改善された。例えば、磁気共鳴撮像 (MRI : Magnetic Resonance Imaging) は、常磁性核のスピニ状態の緩和を監視し、組織の生医学的撮像及び生化学的分光分析を行って、好結果を得ている。しかしながら、MRI 診断は複雑で費用がかかるため、その可用性が、特に日常的な病気の監視手段としては、狭められている。

生物科学において増え应用されつつある別の強力な分析技法に、蛍光分光分析がある。蛍光分光分析の用途には、生医学的診断、遺伝連鎖 (genetic sequencing)、及び流動血球計算 (flow cytometry) が含まれる。Richards-Kortum et al. (リチャード・コータムその他) の米国特許第5, 421, 337号及びWu et al. (ウーその他) の米国特許第5, 452, 723号に代表されるように、何人かの研究者は、非侵入式の外部測定又は侵入を最小限に抑えた内視鏡測定技法による蛍光放出に基づいて、罹患組織と正常組織とを識別するための種々の手法を提唱している。しかしながら、これらの手法は、概して、実用可能な空間撮像技法を提供するには至っていない。蛍光に基づく撮像が使い物にならない理由の1つは、生物組織のような、ランダムな多様散乱媒体からの蛍光特性の有意な関連測定は得ることが難しいことである。例えば、蛍光強度は、蛍光化合物 (即ち、蛍光体) の濃度の関数であり、「摂取」 (uptake) は撮像に可能な1つの候補である。しかしながら、この特性を、微粒子 (セル) 懸濁液、粉体、又は組織のような光学的に密度の高い媒体に用いると、局在的な散乱及び吸収特性が、測定した蛍光

強度と混同してしまう。

強度以外に、蛍光量子効率及び寿命のような蛍光体の他の特性を選択しても、局在的な生化学的環境に感応する。ここで用いる場合、「蛍光量子効率」とは、吸収された励起光子毎に放出される蛍光性光子(fluorescent photon)の部分数、又は蛍光性光子の数値に至る崩壊率の一部を意味する。また、ここで用いる場合、「蛍光寿命」(fluorescent lifetime)は、活性化された蛍光体の平均生存時間、又は励起光子の吸収と蛍光性光子の放出との間の平均時間として定義する。強度と同様、これら蛍光特性の測定は、多くの場合、研究所における明確な試験管内での適用、又は散乱、吸収及び変化する蛍光体の濃度のように組織の制御又は測定が可能な流動血球計算における適用に止まっている。更に、このような適用制限は、一般に、腫瘍又はその他の罹患した組織領域のように、視覚検査では検出できない、隠れた組織の異質部を蛍光体に基づいて撮像するという有意性を排除するものである。

近赤外線(NIR: near-infraredred)波長領域において蛍光を使用して組織を検査する技法が開発できれば、NIR励起及び放出光は、組織及び空気間をかなりの距離にわたって移動可能であるので、正常な組織内の奥深くに位置する罹患組織の非観血的検出も可能となるであろう。Gratton et al. (グラットン等の)の米国特許第5,213,105号、及びChance (チャンス)の米国特許第5,353,799号を、NIRインターロゲーション(質問)に関する更なる背景として引用する。MRI、X線、CT及び超音波撮像理学療法(modality)の場合と同様に、造影剤によってNIR蛍光撮像技法を改良することは、潜在的に可能である。生体撮像用造影剤は、通常、インターロゲーション放射線を吸収することにより所望の撮像の改良を得るために、罹患組織への優先摂取(preferential uptake)に依存していた。光吸収性組織は、放射線の測定強度の空間的な変動が多く、画像のコントラストが改善される。蛍光造影剤の場合、吸収に応答して放出される蛍光性の光の強度は、この強度変動を与える。通常、造影剤によって人工的にもたらされる空間変動の差が大きい程、内部組織の再生画像は一層改善される。しかしながら、外因性の造影剤の有効性は、対象の組織領域に対する造影剤の選択性に大きく依存する。しかしながら、薬品及び造影剤を目

(7)

特表2002-511778

標の部位に特定して供給(delivery)することは、従来より、治療及び診断用撮像双方において適用を制限する因子となっている。したがって、造影剤の組織選択性のみには依存しない造影剤を導入する追加の機構があれば、有利であろう。

このように、1つ以上の蛍光特性に基づいて、多様散乱組織を非侵入式で撮像する技法が、未だに必要とされている。好ましくは、この技法は、インターロゲーション放射線の優先吸収を凌ぐ画像強調特性を有する、外因性造影剤の実使用(implementation)を含む。本発明は、この必要性を満たし、更に他の利点も提供するものである。

発明の概要

本発明は、異質光散乱物質の分光分析撮像に関する。本発明のいくつかの態様は、新規でありかつ非自明であり、種々の利点を与えるものである。ここに網羅する本発明の実際上の性質は、添付した請求の範囲を参照することによってのみ規定することができるが、本発明に特有の特徴のいくつかを、以下に端的に説明する。

本発明の特徴の1つは、異質光散乱物質を撮像する技法である。この技法は、光源からの光に物質の表面を露出させ、応答した発光を検出することを含む。物質の蛍光特性の空間変動を、発光の関数として、プロセッサを用いて判定する。空間変動は、位置の関数として蛍光特性を表す1組の値によって特徴付けることができる。物質の異質組成に対応する空間変動に応じて画像を生成する。この技法は、外部のすなわち外因性の器具を用いて生体内の生物組織に適用され、病気を示す異質性を検出する。この技法は、物質への蛍光造影剤の導入を含む。検出された蛍光特性は、蛍光寿命、蛍光量子効率、蛍光体吸収係数、蛍光収量(蛍光量子効率及び蛍光体吸収度の関数)、又は、当業者には周知のその他の蛍光特性とすることができます。

他の特徴として、蛍光造影剤の生物組織への導入が含まれる。この造影剤は、所定の寿命を有し、組織は光を多様に散乱し、散乱イベント間に、平均飛行時間(mean time-of-flight)が得られる。寿命及び平均飛行時間は、各々の約10倍以内である。所定の時間変動強度を有する励起光に組織を露出させ、この露出に応

答する組織からの光放出を検出する。組織の多数の光散乱挙動をモデル化した数学的関係にしたがって、光放出から組織の蛍光特性のレベルの空間変動をマッピングすることによって、組織の画像を生成する。

更に別の特徴では、前述の造影剤は、画像のコントラスト度と蛍光収量又は蛍光寿命の内少なくとも一方との間の所定の関係に応じて選択することができる。好ましくは、寿命は、約0.1~10ナノ秒(ns)の範囲とする。更に好ましい範囲は、0.5~5nsである。更に一番好ましい範囲は、0.2~2nsである。寿命に最も好ましい値は、約1nsである。

追加の特徴には、異なる組織種別間で画像にコントラストを与える多数の造影剤の性能を評価することが含まれる。この評価は、画像のコントラスト度と、造影剤の蛍光寿命又は蛍光収量の内少なくとも一方との間の関係を決定することを含む。造影剤の1つを、この評価に基づいて選択する。選択した造影剤を生物組織に導入し、組織を通過する多様性散乱光の挙動をモデル化する数学式にしたがって、行われる撮像を改良する。

更に別の特徴では、生物組織を第1励起光に露出させ、この第1励起光に応答した組織からの第1発光を検出する。この検出の後、蛍光造影剤を組織に導入し、次いで組織を第2励起光に露出させる。第2励起光に応答する第2発光を検出する。第1発光に対応するデータを、第2発光に対応するデータと比較し、造影剤によって得られるコントラストを評価する。コントラストは、蛍光寿命、蛍光収量、又は量子効率の内の少なくとも1つの関数として判定することができる。周波数ドメイン形態での評価では、画像のコントラストは、位相差(phase contrast)又は変調比(modulation contrast)に関して評価することができる。更に、第1励起光の波長は、第2励起光に応答して造影剤によって放出される蛍光性の光の波長とはほぼ同一となるよう、選択することができる。

したがって、本発明の目的の1つは、物質の異質組成によって変動する光散乱物質の蛍光特性をマッピングし、関連する画像を生成することである。

本発明の別の目的は、生体有機体(living organism)において隠れている組織容量(tissue volume)の蛍光特性を非侵入式で監視し、更に生体組織の選択された代謝物質を監視する分光分析技法を提供することである。

更に別の目的は、光子移動に基づく撮像のコントラストを改良する蛍光造影剤を選択し設計する技法を提供することである。この技法は、摂取(uptake)のみには依存しないコントラスト強調特性の選択を含むことができる。

本発明の更に別の目的、特徴、態様、効果及び利点は、ここに含まれる図面及び説明から明白となろう。

図面の簡単な説明

図1は、本発明の一実施形態のシステムの概略図である。

図2は、図1のシステムを利用する方法のフロー・チャートである。

図3は、本発明の種々の態様を実証するために用いた組織模型構成を示す概略図である。

図4～図7は、本発明に用いた数式の所定の特性をグラフで示す。

図8及び図9は、本発明の一実施形態を利用した、蛍光収量及び寿命の空間変動のシミュレーション結果における収束状態をそれぞれ示したグラフである。

図10～図14は、本発明の実験例1～3から得られた、コンピュータ生成グレー・スケール画像である。

図15は、本発明の代替実施形態のシステムの概略図である。

図16は、本発明の別の組織模型構成の概略図である。

図17Aは、寿命が1ナノ秒(n s)の造影剤(オープン記号を有する実線)を寿命が1ミリ秒(m s)の造影剤(クローズ記号を有する破線)と比較するための、検出器の角度位置(横軸)の関数としての、位相シフト(縦軸)のシミュレーション測定値のグラフであり、造影剤は異質部に対して選択性があり、異なる形状の線はそれぞれ、異質部の位置が10 mm、20 mm、30 mm、40 mm、及び50 mmにある場合に対応する。

図17Bは、寿命が1ナノ秒(n s)の造影剤(オープン記号を有する実線)を寿命が1ミリ秒(m s)の造影剤(クローズ記号を有する破線)と比較するための、検出器の角度位置(横軸)の関数としての、変調振幅(縦軸)のシミュレーション測定値のグラフであり、造影剤は異質部に対して選択性があり、異なる形状の線は、各々、異質部の位置が10 mm、20 mm、30 mm、40 mm、及び

$\varnothing 5.0\text{ mm}$ にある場合に対応する。

図 18 A は、異質部が発光造影剤を含み、発光造影剤の異質部への攝取が 1.0 : 1、寿命が 1 ns である場合の、検出器の位置（横軸）及び異質部の位置（異なる形状の線は、1.0 mm、2.0 mm、3.0 mm、4.0 mm、及び 5.0 mm の位置に対応する）の関数としての位相差（縦軸）のシミュレーション測定値のグラフである。

図 18 B は、異質部が発光造影剤を含み、発光造影剤の異質部への攝取が 1.0 : 1、寿命が 1 ns である場合の、検出器の位置（横軸）及び異質部の位置（異なる形状の線は、1.0 mm、2.0 mm、3.0 mm、4.0 mm、及び 5.0 mm の位置に対応する）の関数としての位相差（縦軸）のシミュレーション測定値のグラフである。

図 18 C は、異質部が発光造影剤を含み、発光造影剤の異質部への攝取が 1.0 : 1、寿命が 1 ns である場合の、検出器の位置（横軸）及び異質部の位置（異なる形状の線は、1.0 mm、2.0 mm、3.0 mm、4.0 mm、及び 5.0 mm の位置に対応する）の関数としての変調比（縦軸）のシミュレーション測定値のグラフである。

図 18 D は、異質部が発光造影剤を含み、発光造影剤の異質部への攝取が 1.0 : 1、寿命が 1 ns である場合の、検出器の位置（横軸）及び異質部の位置（異なる形状の線は、1.0 mm、2.0 mm、3.0 mm、4.0 mm、及び 5.0 mm の位置に対応する）の関数としての変調比（縦軸）のシミュレーション測定値のグラフである。

図 19 A は、異質部への ICG 造影剤攝取が 100 : 1 の場合における、検出器位置（横軸）及び異質部の位置（異なる形状の線は、1.0 mm、2.0 mm、3.0 mm、及び 4.0 mm の位置に対応する）の関数としての放出光の位相差（縦軸）の実験測定値のグラフである。

図 19 B は、異質部への Ru (bpy)₃²⁺ 造影剤攝取が 100 : 1 の場合における、検出器位置（横軸）及び異質部の位置（異なる形状の線は、1.0 mm、2.0 mm、3.0 mm、及び 4.0 mm の位置に対応する）の関数としての放出光の位相差（縦軸）の実験測定値のグラフである。

図20Aは、変調周波数が80及び160MHz（異なる記号形状）の場合において、ICG造影剤の位相差（縦軸）に対するcmを単位とする異質部（物体）の位置（横軸）の関係について、吸収測定値（オープン記号）及び蛍光測定値（クローズ記号）を比較するグラフである。

図20Bは、変調周波数が80及び160MHz（異なる記号形状）の場合において、ICG造影剤の変調比（縦軸）に対する異質部の位置（横軸）の関係について、吸収測定値（白い記号）及び蛍光測定値（黒い記号）を比較するグラフである。

図20Cは、変調周波数が80及び160MHz（記号の形状が異なる）の場合において、DTTCI造影剤の位相差（縦軸）の異質部の位置（横軸）の関係について、吸収測定値（オープン記号）及び蛍光測定値（クローズ記号）を比較するグラフである。

図20Dは、変調周波数が80及び160MHz（シンボルの形状が異なる）の場合において、DTTCI造影剤の変調比（縦軸）に対する異質部の位置（横軸）の関係について、吸収測定値（オープン記号）及び蛍光測定値（クローズ記号）を比較するグラフである。

図21A～図21Dはそれぞれ、変調位相シフト、AC変調振幅、平均DC強度、及び変調比（AC/DC）について、別個のICG及びDTTCI異質部を含む組織模型に対する空間変動を表す実験測定値から形成した、コンピュータ生成グレー・スケール画像である。

図22A～図22Dはそれぞれ、変調位相シフト、変調比（AC/DC）、平均DC強度、及びAC変調振幅について、ICG造影剤で処置された犬の生体組織像について、空間変動を表すコンピュータ生成グレー・スケール画像である。

好適な実施形態の説明

本発明の原理の理解を促進する目的のために、図面に示す実施例を参照し、具体的な言葉を用いてこれを説明する。しかしながら、これによって本発明の範囲の限定を意図するものではないことは理解されよう。ここに記載する技法、方法、システム、及び装置におけるあらゆる変形及び更なる修正、ならびに、ここに

記

載する本発明の原理の更に別の適用は、そのいずれもが、本発明に関連する当業者には通常に想起されるものである。

図1は、組織100の蛍光撮像のための本発明のシステム110を示す。組織100は、表面101、及び表面101の下に位置する領域102、103で表す異質組成を有する。異質組成102、103は、通常、表面101の視覚検査では検出することができない。

システム110は、変調光源120を含み、所定の周波数及び波長の強度変調励起光を、光ファイバ123を通じて組織100に供給する。好ましくは、光源120は、従来の設計のレーザ・ダイオードであり、変調出力の周波数範囲が1～500MHz、モノクローム出力の波長範囲が100～1000ナノメートル(nm)である。特定の波長を選択し、組織100内において指定した蛍光体を励起させる。ビーム・スプリッタ126を用いて、励起信号の部分を処理の目的のために基準センサ128に振り分ける。

また、システム110は、検出サブシステム140も含む。検出サブシステム140は、組織100内の多数の対応する検出部位から放出される光子を検出するため、光ファイバ143を有する。検出サブシステム140は、1つ以上の発光センサ148を含む。また、検出サブシステム140は、組織100内の指定した蛍光体の発光に対応する、選択した発光波長を得るために、干渉フィルタも含む。一実施形態では、サブシステム140は、単一のセンサ148を含み、ファイバ143からの信号を多重化する。好ましくは、センサ128、148は、光多重管(PMT: Photo-multiplier Tube)、又はフォトダイオード検出器であるが、画像拡大器(image intensifier)及び電荷結合素子のような、他の様々なセンサも考えられる。

センサ128、148及び光源120は、動作的にヘテロダイン・サブシステム130に結合されている。サブシステム130は、従来のヘテロダイン技法を用いて、センサ148によって検出した光に対して、センサ128によって検出した光の位相、AC強度、及びDC強度に関する情報を得るように構成されてい

る。一実施形態では、ヘテロダイン・サブシステム130は、光源120に用いられるレーザの繰り返し率に位相ロックした、信号シンセサイザを含む。この実

施形態では、サブシステム130は増幅器を含み、レーザ繰り返し率の高調波(パルス化レーザを用いる場合)又は変調周波数(変調レーザ・ダイオードを用いる場合)にオフセットを加えた周波数でセンサ128、148を変調し、所望のヘテロダイン処理を行うようとする。この実施形態の一変形では、80MHzのパルス化レーザの繰り返し率を分周して10MHzに落とし、これをシンセサイザに入力し、100kHzのヘテロダイン・オフセットをセンサ128、148用の増幅器に入力する。

センサ128、148はプロセッサ160に結合されている。プロセッサ160は、入力/制御装置162、出力装置164、及びメモリ166を含む。プロセッサ160は、1つ以上の構成部品から成る電子回路とすることができる。同様に、プロセッサ160は、デジタル回路、アナログ回路、又はその双方から成るものとすることもできる。また、プロセッサ160は、プログラム可能であり、一体化した状態機械としたり、又はそれらを組み合わせた混成物とすることも可能である。好ましくは、入力装置162は、キーボード、又は従来から用いられている種々の入力制御装置であり、出力装置166は、陰極線管(CRT)を基本とするビデオ・ディスプレイ、プリンタ、又は当業者には公知のその他の画像表示システムである。メモリ166は、好ましくは、電子的(例えば、シリッド・スタート)、磁気的又は光学的な種々の形式で、電子コントローラ又はプロセッサと共に使用するために容易に入手可能なものとする。更に、メモリ166は、光ディスク・メモリ(CD)、電磁ハード又はフロッピ・ディスク媒体、あるいはこれらの組み合わせを含むことも可能である。

図2は、システム110の一動作モードを、プロセス210として示す。プロセス210は、プロセッサ160による、蛍光収量の空間変動及び寿命のマッピング、ならびにマッピングに応じた画像信号の発生を含む。出力装置164は、画像信号に応答して画像を表示するように構成されている。プロセッサ210は、ステップ212において、蛍光造影剤を組織100に導入することからにより

処理を開始する。この造影剤は、サブシステム240による検出のための蛍光発光源となる。変調光源120、ヘテロダイン・サブシステム130、及び検出サブシステム140の構成は、選択した蛍光剤の励起及び放出特性に対応するよう

に

設計されている。別の実施形態では、外因性蛍光体をその代わりに用いたり追加的に用い、それに応じてシステム110を調整することも可能である。

ステップ214において、選択した蛍光体に応じて構成された光源120が、組織100を励起させる。ステップ216において、光源120からの励起光に対する、各検出部位「i」における発光の位相 θ_{obs} 、及びAC強度 M_{obs} の対数を、ヘテロダイン（又はオフセット）周波数において判定する。「Di」箇所の検出部位について、それぞれ (θ_{obs}) 、及び (M_{obs}) という表記を用いて、検出又は観察位相及びAC強度にインデックス「i」を付す。プロセッサ160は、相対位相及びAC強度情報をメモリ166に格納する。

ステップ218において、撮像に選択した組織100の区域に二次元格子を確立し、格子点のマトリクスを確立し、インデックス「j」を付す。各格子点j毎に、蛍光収量に対する均一のシード値、 $y_j = (\eta_{\mu_{ext,n}})$ 、及び蛍光寿命(τ)_jを割り当てる。これらの値は、収量及び寿命値の初期異質推定値であり、後のステップで変更される。項「 η 」は、蛍光体の量子効率であり、蛍光体周囲の環境によって変化する。項「 $\mu_{ext,n}$ 」は、蛍光体の吸収係数であり、自然対数に基づく蛍光体の消衰係数(extinction coefficient)と蛍光体濃度との積である。その結果、収量 $y = \tau \mu_{ext,n}$ は、周囲の新陳代謝及び蛍光体の摂取による影響を受ける。ある既知の蛍光体の摂取は、対象組織の種類及び状態によって変化し、病気を検出するために有用な、異なる蛍光特性を与える。これらの特性によって与えられるコントラストは、蛍光体濃度に対する独立性が高い。蛍光収量及び寿命の初期推定値は、後に使用するために、プロセッサ160によってメモリ166に格納される。

このように収量 $\eta \mu_{ext,n}$ 及び寿命 τ の蛍光特性の初期推定値を確定した後、処理ループ220はステップ230に移る。好ましくは、処理ループ220のス

(15)

特表2002-511778

テップは、予めプログラムされたソフトウエア、専用ハードウエア、又は必要に応じて双方の組み合わせによって、プロセッサ160によって実行される。プロセス210及びループ220の種々の数学的性様を理解するために、以下に選択した変数の表を纏めておく。

c	真空における光速
D (r)	光分散係数
Di	検出部位数
f	変調周波数
I	恒等行列
I _i	検出部位インデックス
J	各格子点jにおける、各検出部位における応答に
k ^j	対する感度に関係するヤコビ行列
l	格子点インデックス
l ^j	ヤコビ行列Jの各要素
M	光源インデックス
n	変調された蛍光性の光の位置のAC強度の対数
m	多数の変調周波数に対するインデックス
r	平均屈折率
s	位置 (二次元又は三次元)
S _k	変調光源数
$\sum_{k=1}^S$	位置r及び周波数 ω における変調光に対する光源項
χ	最小二乗誤差を表すメリット関数
$\Phi (r, \omega)$	周波数ドメインの位置r及び周波数 ω における
η	光子流動を表す複素数
ϕ	蛍光プローブ又は色素の量子効率
μ	平均吸収係数
μ_{fl}	非蛍光発光団及び蛍光体双方による蛍光性の光の

(16)

特表2002-511778

吸収係数

μ_{ex} 非蛍光発光団及び蛍光体双方による励起光の吸収係数

μ_{a} 吸収係数

μ_{e} 非発光発光団による吸収係数

μ_{exc} 蛍光体による励起光の吸収係数

有効散乱係数

β 一方の変調光波の他方に対する位相シフト

τ 位置 r において活性化したプローブ又は色素の寿命

ω $2\pi f$ で与えられる角度変調周波数

下付き文字

o b s 観察又は実験データ

x 励起光

m 蛍光又は放出光

ステップ230において、各検出部位「i」における位相及び相対AC強度を、各格子点 j 每に、収量及び寿命の初期推定値の関数として計算する。計算した位相及び強度は、各検出部位 i において、それぞれ、 (θ_i) 及び (M_i) として表される。 (θ_i) 及び (M_i) に対する値を決定するには、放射伝達方程式(radiative transport equation)の拡散方程式近似を用いる。拡散方程式近似は、組織又は多様散乱媒体における光の空間的及び時間的伝達を表している。結合周波数ドメイン拡散方程式を用いて、式(1)及び(2)によって、組織100の選択した格子内のいずれかの位置 r における、励起及び放出フルーエンス(影響)率 $\Phi_x(r, \omega)$ 及び $\Phi_m(r, \omega)$ をそれぞれ予測することができる。

$$\nabla \cdot [D_x(r) \nabla \Phi_x(r, \omega)] - [\mu_{ax}(r) + j\omega/c_n] \Phi_x(r, \omega) + S_x(r, \omega) = 0 \quad (1)$$

$$\nabla \cdot [D_m(r) \nabla \Phi_m(r, \omega)] - [\mu_{am}(r) + j\omega/c_n] \Phi_m(r, \omega) + S_m(r, \omega) = 0 \quad (2)$$

励起光 $S_x(r, \omega)$ に対する光源項は、角周波数 $\omega = 2\pi f$ における正弦変調光によるものであり、ここで、 f は通常MHz周波数範囲にある。拡散方程式(1)及び(2)の双方における第1項は、多様散乱光の拡散的即ち「ランダム・ウ

(37)

特表2002-511778

「オーク」伝達を表し、ここで、 $D_{x,m}$ は、以下の式(3)の光拡散係数である。

$$D_{x,m} = [3(\mu_{ax,m} + \mu'_{ax,m})]^{-1} \quad (3)$$

μ 及び μ' はそれぞれ、組織 100、即ち、対象媒体に対する、吸収及び等方性散乱係数である。光の多様散乱は、 $\mu' >> \mu$ の場合に発生し、 μ_{ax} 、所定の物質に対し所定の波長においての光を吸収する能力を示し、 μ' は光を散乱する能力を示す。ここで用いる場合、「多様に散乱する光」とは、 $1/\mu'$ として定義する、平均等方性散乱長の少なくとも 5 倍は移動する光のことを言う。

これらの光学的特性は光の波長に依存するので、係数は、通常、光源 120 からの励起光(下付き文字 x)と、サブシステム 140 によって検出された蛍光放出(下付き文字 m)とでは異なる。励起波長 μ_{xx} における全吸収係数は、非蛍光性発色団及び励起波長に応答する蛍光体からの影響によるものである。全吸収係数は、非蛍光性発色団 μ_{xxx} 及び蛍光体 μ_{xmx} による吸収係数の和で与えられる。一般に、蛍光波長において発生する吸収は、主に非蛍光性発色団によるものと仮定することができる。組織内の光速は、 $c_s = c/n$ であり、n は平均屈折率である。蛍光性発光の光源項は、励起光フルーエンス $\Phi_x(r, \omega)$ に依存し、次の式(4)で与えられる。

$$S_m(r, \omega) = \eta \mu_{ax \rightarrow m}(r) \Phi_x(r, \omega) [(1 - i\omega \tau(r)) / (1 + \omega^2 \tau(r)^2)] \quad (4)$$

この項は、励起光の入射パルスに続く、時間ドメインにおける蛍光減衰項のフーリエ変換から得られ、ここで、 τ は蛍光体の寿命、 η は量子効率、そして吸収係数 $\mu_{ax \rightarrow m}$ は、自然対数に基づく消衰係数と基底状態における蛍光体の濃度との積である。先に示したように、結合した積 $\eta \mu_{ax \rightarrow m}$ は、蛍光収量 y と呼ばれ、発生する蛍光フルエンスに比例する。式(4)を式(2)に代入することにより、各格子点「j」における χ の判定が容易になる。格子点「j」によって定義される二次元区域に対する拡散方程式(1)及び(2)の解は、容易に三次元に拡張でき、三次元における位置に対応する、「r」を有する選択した体積における

る1つ以上の蛍光特性の空間変動を推定することができる。

拡散方程式(1)及び(2)は双方とも、線形複素拡散方程式であり、複素量 $\Phi_x(r, \omega)$ 及び $\Phi_y(r, \omega)$ に対する境界値問題として解くことができる。この解は、差分法を用いて、対応する差分方程式を形成する。これらの差分方程式を利用して、各格子点jにおける近似解を求める。この解法は、他の関連において、Fulton et al. (フルトンその他)、Multigrid Method for Elliptic Problems, A Review (楕円問題に対する多格子方法、一考察) 114 American Meteorological Society pp.943-59(1986年5月)、及びB.W.Pogue et al. (B.W.ポーグその他)、Initial Assessment of a Simple System for Frequency Domain Diffusion Optical Tomography (周波数ドメイン拡散光学断層撮影法の単純なシステムに対する初期評価) 40 Physics in Medicine and Biology pp.1709-1729(1995)に記載されている。この解法を実行する好適な方法の1つは、Adams, J.C. (アダムス, J. C.) のMUDPACK: Multigrid Portable Fortran Software for the Efficient Solution of Linear Elliptic Partial Differential Equation (MUDPACK: 線形楕円偏微分方程式の効率的な解法のための多格子移植可能なフォートラン・ソフトウェア) 34 App. Math. Comp. p.133(1989)に記載されている、MUDPACKルーチンを用いることである。拡散方程式の解法について、ゼロ・フルーエンス境界条件として知られる、組織100の表面上で $\Phi_{x,y}(r, \omega) = 0$ と仮定する。他の境界条件を選択し、それに応じて解法を変化させてもよい。

拡散方程式(1)及び(2)は、各格子点j毎の ω に対する複素数について解くことも可能である。表面上で検出した信号は、光子フルーエンスの傾斜の垂直成分に比例する。組織100の表面101上に位置する検出器の部位「i」における信号を近似するために、この部位に最も近い内部格子点における Φ 値を選択する。これは、光子フルーエンス傾斜の垂直成分が表面101の丁度内側の Φ に比例するという関係に従う。検出部位「D i」において計算した位相偏差(ラグ) θ_m 、及びAC強度の対数 M_m は、光源120の位相及びAC強度に関する複素数 Φ 値の虚部及び実部から計算する。

拡散方程式（1）及び（2）は、検出器の部位 j において測定した ϕ 及び M に対する、組織100の蛍光光学特性を変化させる感度に対する眼識を与える。

この眼識は、拡散方程式（1）及び（2）の種々のパラメータを固定しておき、一連の計算を行った結果、得られる。これらの計算は、図3に示すように、模型の背景303に隠されている、埋め込み異質部302を有する円形組織模型300を想定する。模型300に二次元格子を確立する。これは容易に三次元に拡張可能である。これらのシミュレーション状態の下で、シミュレートした組織模型の外側の全格子点において、励起光及び蛍光性の光双方に対する吸収係数に大きな値を割り当てる。各光源に最も近い表面付近の格子点において、任意の複素数を割り当てるにより、図3の4つの光源 $S_1 \sim S_4$ ($S_k = 4$)をシミュレートする。検出部位に最も近い格子点「 j 」における ϕ から決定した計算値を用いることにより、図3の20箇所の検出部位 $D_1 \sim D_{20}$ ($D_i = 20$)をシミュレートする。拡散方程式（1）及び（2）に対するシミュレーションの解は、直径30mmで組織模型300の中心に位置する（この位置は、図3の異質部302の構成とは多少異なる）、円形の埋め込み異質性部分を有する直径100mmの円形組織模型300を覆う二次元の 65×65 格子について得られる。蛍光位相シフト及びAC強度のシミュレーション測定値は、20箇所の均一に離間された円周方向に位置する検出部位 $D_1 \sim D_{20}$ に対して、報告される。変調周波数 f は、150MHzに設定した。異質部及び背景の光学特性を、以下の表1に示す。

(20)

特表2002-511778

μ_{ax} (mm^{-1})	μ_{ss} (mm^{-1})	μ_{ss} 又は μ_{ss} (mm^{-1})	$\mu_{ss \rightarrow c}$ (mm^{-1})	$\eta \mu_{ss \rightarrow c}$ 背景 (mm^{-1})	τ 背景 (ns)	周波数 (MHz)
$\mu_{ss \rightarrow c} \div$ $\mu_{ss \rightarrow m}$	0.0	1.0	0.0	1.0×10^5	1.0	150.0

表 1

$\eta \mu_{ss \rightarrow c}$ の影響を評価するために、各検出部位 D 1 ~ D 20 において、異質部における $\eta \mu_{ss \rightarrow c}$ の値が 10^{-4} mm^{-1} から 10^{-1} mm^{-1} まで増加し、背景 303 における $\eta \mu_{ss \rightarrow c}$ を一定に維持した場合に、 θ_s 及び M_s を計算した。寿命 τ は、物体及び背景双方に対して 1 ns に等しく設定し、 $\eta \mu_{ss \rightarrow c}$ の差によるコントラストを生じさせた。1つのアクティブな光源 S 1 についての θ_s 及び M_s のプロットを、それぞれ、図 4 及び図 5 に示す。異質部 102 の $\eta \mu_{ss \rightarrow c}$ がより高い値に増加するに連れて、AC 強度は、希釈非散乱溶液 (dilute non-scattering solution)において予期されるものと同様の上限に近づいて行く。図 5 は、発光体 $\mu_{ss \rightarrow m}$ による吸収係数が背景の 10 ~ 100 倍に減少する際に、蛍光位相シフト θ_s がどのように減少するかを示す。これらのシミュレーションから、 M_s は、シミュレートした組織の異質部 102 の $\eta \mu_{ss \rightarrow c}$ の変化に直接依存し、一方、 θ_s は、光子移動の変化により、 $\eta \mu_{ss \rightarrow c}$ には間接的に依存することが明らかである。

τ の影響を評価するために、異質部における τ の値が 10^{-1} ns から 10^3 ns まで変化し、背景における τ の値を 1 ns に保持した場合の、各検出部位 D 1 ~ D 20 における θ_s 及び M_s を計算した。背景 $\eta \mu_{ss \rightarrow c}$ を 10^{-5} mm^{-1} に設定し、異質部に対する $\eta \mu_{ss \rightarrow c}$ を 10^{-3} mm^{-1} に設定した。図 6 に示すように、 τ が減少するに連れて、検出した AC 強度は増加する。図 7 は、異質部の寿命を 0, 1 ns から 1000 ns に変化させた場合の、各検出部位における蛍光位相シフトの値を示す。所定の変調周波数において (この計算では 150 MHz)、

(21)

特表2002-511778

τ が0.1nsから1000nsに増加すると、 θ_m は最初に増加し、最大値に達し、次いでその後減少する。したがって、各検出部位D1～D20における θ_m 及び M_m の双方は、異質部における寿命の値に直接影響されることが明らかである。

図2に戻り、ステップ240において、各検出部位「i」について、計算した発光位相及び強度(θ_{obs})_i及び(M_{obs})_iを、測定した発光位相及び強度(θ_{obs})_i及び(M_{obs})_iと比較し、測定値と計算値との間の相違即ち「誤差」を確認する。 $(\chi_{\mu}^{max})_i$ は(M_m)_iに影響を与えるので、この比較は、以下の式(5)のメリット関数 χ_{μ}^2 の形態で行う。

$$\chi_{\mu}^2 = (1/S_k) \sum_{k=1}^{Sk} (1/D_i) \sum_{i=1}^{Di} [((M_{obs})_i - (M_m)_i)/\sigma_M]^2 \quad (5)$$

ここで、 σ_m は M_m におけるノイズの典型的な標準偏差であり、0.01とし、 S_k は、 k をインデックスとする励起源部位の数であり、 D_i は*i*をインデックスとする検出部位の数である。このアルゴリズムの目的は、 $(\chi_{\mu}^{max})_i$ の近似更新によって、 χ_{μ}^2 を最小化することである。 $(\chi_{\mu}^{max})_i$ の最初の更新の後、 $(\tau)_i$ に関する別のメリット関数が、ステップ240の比較に用いられる。このメリット関数 χ_{τ}^2 は、以下の式(6)で表される。

$$\chi_{\tau}^2 = (1/S_k) \sum_{k=1}^{Sk} (1/D_i) \sum_{i=1}^{Di} [((M_{obs})_i - (M_m)_i)/\sigma_M]^2 + [((\theta_{obs})_i - (\theta_m)_i)/\sigma_{\theta}]^2 \quad (6)$$

ここで σ_{θ} は、 $(\theta_m)_i$ におけるノイズの典型的な標準偏差であり、1度を取る。 k は k をインデックスとする励起源部位の数であり、 D_i は*i*をインデックスする検出部位の数である。寿命は(θ_m)_i及び(M_m)_i双方に影響を及ぼす。式(6)では位相及びAC強度を用いる。

メリット関数 χ_{μ}^2 及び χ_{τ}^2 を計算することによってステップ240の比較を仕立てる。た後、制御は条件ステップ250に進み、観察値(θ_{obs})_i及び(M_{obs})_iのメリット関数を通じた計算値(θ_m)_i及び(M_m)_iに対する比較が選択した取

某基準を満たすか否かについて試験する。この基準は、収量及び寿命値を決定する際の許容誤差に対応する。一実施形態では、以下の3つの量、すなわち (i) χ^2 、(ii) ループ220の連続する繰り返しにおける χ^2 の変化、又は (iii) ループ220の連続する繰り返しにおける χ^2 の相対変化が、所定のスレシホールド値 1.0×10^{-3} 未満である場合に、収束が達成される。他の実施形態では、当業者であれば想起されるように、異なる比較計算及び閾値する条件を用いればよい。ステップ250での条件が満たされた場合、制御フローはステップ270に進み、ループ220から出る。しかしながら、この基準が満たされない場合、ステップ260においてループ220の実行を継続する。

ステップ260において、各格子点 j における収量 (y) $_{j, \eta \mu_{\max}} = (\eta \mu_{\max})_j$ 、

及び寿命 (τ) $_{j, \eta \mu_{\max}} = (\tau)_{j, \eta \mu_{\max}}$ の値が、比較ステップ240及び条件ステップ250での判定に對応する最小誤差に到達するように、これらを更新する。これらの値を更新するため、ヤコビ行列を用いて、各格子点 j における (y) $_{j, \eta \mu_{\max}} = (\eta \mu_{\max})_j$ 、及び寿命 (τ) $_{j, \eta \mu_{\max}} = (\tau)_{j, \eta \mu_{\max}}$ の変化に対する、各検出位置における応答の選択性を記述する。次の3つのヤコビ行列を用いる。

$$\tilde{J}(M, \eta \mu_{\max} - m), \quad \tilde{J}(M, \tau), \quad \tilde{J}(\theta, \tau);$$

ここで、これらヤコビ行列の $J_{i,j}$ は、それぞれ、 $J_{i,j} = [\partial M_i / \partial (\eta \mu_{\max})_j]$; $J_{i,j} = [\partial M_i / \partial \tau_j]$; 及び $J_{i,j} = [\partial \theta_i / \partial \tau_j]$ で与えられる。これらの要素は、各格子点 j について拡散の式 (1) 及び (2) を4回解いて、 $M_{m,i}$ 及び $\theta_{m,i}$ を得ることによって計算することができ、 (τ) 及び $(\tau + \partial \tau)_j$ を用い、更に $(\eta \mu_{\max})_j$ 及び $(\eta \mu_{\max} + \partial \eta \mu_{\max})_j$ を用いて計算する。最小二乗による最小化から、収量及び寿命に対する更新を計算する。好適な実施形態の1つでは、この更新アルゴリズムは、Yorkey, et al. (ヨーキーその他) の Comparing reconstruction Algorithms for Electrical Impedance Tomography (電気インピーダンス断層撮影法のための再生アルゴリズムの比較) (34 Transactions in Biomedical Engineering, pp. 843-52(1987)) によって提唱されたアルゴリズムのような、電気インピーダンス断層撮影法によって得られる画像を再生するため

(23)

特表2002-511778

に用いられるアルゴリズムから適合化したものである。ヤコビ行列は、更新ベクトル $[\Delta \tau \mu_{\text{obs}}]$ 及び $[\Delta \tau]$ について解き、推定収量及び寿命ベクトル $[\tau \mu_{\text{obs}}]$ 及び $[\tau]$ をそれぞれ求めるために用いられる。これらのベクトルは、格子点数に対応する次元を有する。ループ220の各繰り返し毎に、以下のヤコビ式 (7) 及び (8) を解いて、推定収量及び寿命ベクトルに対する更新を決定する。

$$\left[\begin{array}{l} \frac{\tilde{J}(M, \tau \mu_{\text{obs}})_{x \rightarrow m}^T \tilde{J}(M, \tau \mu_{\text{obs}})_{x \rightarrow m} + \lambda_1 I}{\sigma_M^2} \\ \frac{\tilde{J}(M, \tau \mu_{\text{obs}})_{x \rightarrow m}^T (\tilde{M}_{m_{\text{obs}}} - \tilde{M}_m)}{\sigma_M^2} \end{array} \right] = \quad (7)$$

$$\left[\begin{array}{l} \frac{\tilde{J}(M, \tau)^T \tilde{J}(M, \tau) + \tilde{J}(0, \tau)^T \tilde{J}(0, \tau) + \lambda_2 I}{\sigma_\theta^2} \\ \frac{\tilde{J}(M, \tau)^T (\tilde{M}_{m_{\text{obs}}} - \tilde{M}_m) + \tilde{J}(0, \tau)^T (\tilde{\theta}_{m_{\text{obs}}} - \tilde{\theta}_m)}{\sigma_\theta^2} \end{array} \right] = \quad (8)$$

$\tilde{M}_{m_{\text{obs}}}$ 及び \tilde{M}_m は、それぞれ、1箇所の検出部位の各々におけるAC強度の対数の観察ベクトル及び計算ベクトルである。 $\tilde{\theta}_{m_{\text{obs}}}$ 及び $\tilde{\theta}_m$ は、それぞれ、1箇所

の検出部位の各々における位相遅れの観察ベクトル及び計算ベクトルである。ヤコビ行列の性質上、条件が悪いことから、マルカルト最小化方式(Marquardt minimization scheme)の一部として、項 $\lambda_1 I$ 又は $\lambda_2 I$ を追加する。Iは恒等行列である。パラメータ λ_1 又は λ_2 は、Press et al. (プレスその他) の Numerical Recipes: The Art of Scientific Computing (数値処方: 科学技術計算の技術) (Cambridge University Press, 1992)に開示されている種類の Marquardt-Levenberg (マルカルト-レーベンベルグ) 型アルゴリズムによって調節する。従来の数値方法を用いて、ヤコビ行列式 (7) 及び (8) から得られる連立一次代数方程式を解く。ヤコビ行列は、ループ220を繰り返す毎に、再度計算する。式 (7) 及び (8) は、収量及び寿命の推定値に対して適切な変化を選択する方法をもたらすことがわかったが、同業者であれば想起し得るような、反復繰り返しによ

って容認し得る推定値を得るその他の数値手法も考えられよう。一旦更新が完了したなら、制御はステップ230に戻る。

ステップ250における収束条件を満たす場合、格子点に対する収量及び寿命の推定は、容認可能な最小値に到達したことになり、制御はステップ270に進む。ステップ270において、収量及び／又は寿命蛍光特性の空間変動から、プロセッサ160によって画像信号を発生する。この画像信号を出力装置164に送り、出力装置はこれに応答して、画像を表示する。収量及び寿命の蛍光特性は、蛍光体の生物学的環境と共に変化するので、この画像は概略的に組織の変化を示し、異質部102、103を検出する機能をもたらす。例えば、組織内数センチメートルまで貫通することができる近赤外線(NIR)光を供給可能なレーザ・ダイオード、及びNIR光に応答する蛍光造影剤を用いて、実現可能な撮像システム。

システムを提供することができる。一実施形態では、このシステムは、内視鏡と共に用いるために適合化する。

収量及び寿命以外にも、罹患した組織を区別するのに有用なその他の蛍光特性の空間変動も、拡散方程式(1)及び(2)を用いて、マッピングしてもよい。かかる代わりの蛍光特性には、算出された収量(yield product)とは独立した別個の特性として決定される、量子効率 ϕ 及び／又は蛍光吸収係数 μ_{ext} が含まれるが、これらに限定される訳ではない。

プロセス210のような本発明による撮像方法は、組織-空気界面における生体組織の励起光への露出、及び空気-組織界面上において光源から多少離れて位置する検出器まで伝搬した光の検出を含むことは認められよう。この露出に応答して放出される多様散乱光の時間依存伝搬特性を測定する。プロセス210と関連して説明したように、強度変調光源を、周波数ドメイン測定に用いることができる。強度変調光の伝搬波は、蛍光特性の空間分布のために、励起光に対して、振幅が減衰し位相がシフトしている。位相遅延及び振幅変調の外部測定から、拡散方程式(1)及び(2)のように、組織の多様光散乱挙動をモデル化する数学的関係を用いて、内部蛍光特性を判定する。これらの蛍光特性をマッピングすれ

ば、組織の対応する内部画像を得ることができ、隠れた異質部の識別が容易となる。

代替実施形態では、時間ドメインにおいて測定を行うことも可能である。この実施形態では、空気-組織界面において光のパルスを発する。組織内の蛍光特性の空間変動のために、光のパルスは組織内の伝搬の間に拡大していく。空気-組織界面から放出され拡大したパルスを測定する。この実施形態では、時間ドメイン形態の拡散方程式、又は当業者であれば想起し得る、多様散乱光の組織伝搬を特徴化するためのその他の同様の数学的関係を利用して、蛍光特性を計算することができる。次いで、これらの特性をマッピングし、プロセス210に関して説明したように、対応する画像を発生することができる。

周波数及び時間ドメイン手法は双方とも、多様散乱の発生による光の、組織を貫通する時間伝搬を、その主要な根拠とする。所与の光子について、多様散乱媒体を通過する移動時間は、衝突即ち「散乱の発生」回数と共に増大し、散乱経路

の延長に対応する。この移動時間は「飛行時間」(time-of-flight)として知られている。典型的に、飛行時間は、生物学的組織ではナノ秒の数分の1~数ナノ秒程度である。多くの光子の各々が異なる散乱経路に沿って移動する通常の場合は、光子の平均「飛行時間」は、周波数又は時間ドメインの測定から判定することができる。これらの時間に基づく測定を、対応する数学的モデルと共に利用して、蛍光特性をマッピングする。

蛍光特性マップによって組織の画像を得ることができが、組織の画像は、組織内の内因性蛍光体のみに基づくものでも、又は対象の組織体積に対して選択的な造影剤の導入によって強調されたものでもよい。この造影剤は、X線及びCT撮像用造影剤の場合と同様に、放射線を吸収し、対応して対象の組織体積に対する撮像領域を暗くする。あいにく、選択吸収によって得られるコントラストには限界がある。しがたって、本発明の他の実施形態では、従来のコントラスト機構を増強する外因性造影剤を選択する技法を提供する。局在的な生化学的環境と共に変化する蛍光特性は、多くの場合、吸収に基づくコントラストのみで再生可能な罹患組織体積のコントラストを強めることができが、この局在的環境

コントラスト機構を与える特性の中には、蛍光寿命 τ 、即ち、励起光子の吸収と蛍光性光子の放出との間の平均時間、蛍光量子効率 γ 、即ち、吸収された励起光子毎に放出される蛍光性光子の数、及び蛍光量子収量 η がある。

質問される組織の光子「飛行時間」の約10倍以内の蛍光寿命を有する蛍光造影剤が、光子移動撮像にコントラストを与える上で驚異的に有利であることが、発見されている。この驚異的な利点を利用する1つの方法は、撮像対象の組織に予測される平均飛行時間の10倍以内の蛍光寿命を有する造影剤を選択することである。典型的に、この原理を適用することにより、造影剤の寿命に約0.1～1.0 nsという好適な範囲が得られる。より好ましくは、造影剤の蛍光寿命の範囲は、約0.5～5 nsの範囲とする。造影剤の蛍光寿命に更に好ましい範囲は、約0.2～約2 nsである。寿命に最も好ましい値は、約1 nsである。

また、蛍光特性は、検出された光放出の測定値の解像度にも影響を与えることが発見されている。例えば、周波数ドメインでは、造影剤を含む隠れた異質部から発せられる、強度変調された蛍光性の光の振幅は、通常、量子収量 η 又は量

子効率 γ と共に増大することがわかっている。更に、異質部内における蛍光寿命 τ がその周囲に対して延長するに連れて、位相差が増大する。遂に、検出された強度変調光の振幅は、異質部内では、その周囲に対して、蛍光寿命 τ が延長するにつれて減少する。これらの発見を通じて、組織の異質構成の光子移動質問に適した所望の測定解像度及び蛍光寿命差が得られるように、蛍光剤を選択又は調合することができる。更に、これらの発見については、この説明の最後にある例4～7に関連付けて説明する。

通常、例4～7に示すように、適切な造影剤の選択又は調合を行うには、画像のコントラストと、寿命、収量又は量子効率のような蛍光特性との間の関係を、所与の造影剤に対して選択性を有する異質部の位置の関数として決定する。これらの関係は、多数の異なる造影剤について評価を行い、所与のコントラスト問題に対して好適な造影剤を選択すればよい。周波数ドメインに基づく評価では、画像のコントラストは、位相シフト変動、変調変動、又は双方に関して特徴付けることができる。更に、ベースライン（「なし」の場合）を与える造影剤を用いず

(27)

特表2002-511778

に第1励起光に対するサンプルの応答を測定し、次いで造影剤の導入の後（「あり」の場合）第2励起光に対する応答を測定することにより、画像のコントラストを強めることができる。これら2つの応答に対応するデータを比較し、造影剤のコントラスト付与能力を評価する。第1励起光の波長は、造影剤の蛍光性を刺激すると予期される同じ波長において、組織の内因性蛍光応答を刺激するように選択するとよい。あるいは、第1励起光の波長は、造影剤によって放出される蛍光性の光と同一とし、組織の内因性蛍光性を造影剤の蛍光性から一層分離させることも可能である。また、異なる波長を用いて多數の比較を行い、造影剤の影響をより良く評価することも可能である。

本発明の別の実施形態では、光子フルーエンス方程式及びヤコビ推定プロセスを適合化し、指定された蛍光剤攝取濃度のマップを決定する。この実施形態では、収量及び寿命の推定値の代わりに、各格子点 j における発色団の吸収係数 μ_{ax} 及び散乱係数 μ' を推定することにより、発色団の吸収係数 $\mu_{ax_{-c}}$ の第1マップ及び散乱係数 μ' を、指定した蛍光剤がない場合について決定する。 $\Phi_x(r, \omega)$ に対する拡散方程式 (1) を、変更したヤコビ方程式 (7) 及び (8) と共に

に用いて、この第1マップを作成することができる。変更とは、収量の代わりに発色団の吸収度及び散乱係数を代入し、適合化の後に、以下のようにこれらの新たな特性に適応させることである。

$$\begin{aligned} & \left[\frac{\bar{J}(M_x, \mu_{ax \rightarrow c})^T \bar{J}(M_x, \mu_{ax \rightarrow c})}{\sigma_M^2} + \frac{\bar{J}(e_x, \mu_{ax \rightarrow c})^T \bar{J}(e_x, \mu_{ax \rightarrow c})}{\sigma_\theta^2} + \lambda_2 \bar{I} \left[\frac{\Delta \mu_{ax \rightarrow c}}{\Delta \mu_{ax \rightarrow c}} \right] \right] = \\ & \left[\frac{\bar{J}(M_x, \mu_{ax \rightarrow c})^T}{\sigma_M^2} (M_{x_{obs}} - \bar{M}_x) + \frac{\bar{J}(e_x, \mu_{ax \rightarrow c})^T}{\sigma_\theta^2} (\bar{\theta}_{x_{obs}} - \bar{\theta}_x) \right] \quad (9) \end{aligned}$$

及び

(28)

特表2002-511778

$$\begin{aligned} & \left[\frac{\bar{J}(M_x, \mu_s)^T \bar{J}(M_x, \mu_s)}{\sigma_M^2} + \frac{\bar{J}(\theta_x, \mu_s)^T \bar{J}(\theta_x, \mu_s)}{\sigma_\theta^2} + \lambda_2 \bar{I} \right] \bar{I} \bar{I} \\ & \left[\frac{\bar{J}(M_x, \mu_s)^T (M_{x_{obs}} - \bar{M}_x)}{\sigma_M^2} + \frac{\bar{J}(\theta_x, \mu_s)^T (\theta_{x_{obs}} - \bar{\theta}_x)}{\sigma_\theta^2} \right] \quad (10) \end{aligned}$$

4つのヤコビ行列 $\bar{J}(M_x, \mu_{ax-i})$, $\bar{J}(M_x, \mu_s)$, $\bar{J}(\theta_x, \mu_{ax-i})$, 及び $\bar{J}(\theta_x, \mu_s)$ の

要素は、それぞれ、以下の式によって与えられる。

$$\bar{J}_{i,j} = \frac{\partial M_{x_i}}{\partial (\mu_{ax-i})_j}, \quad \bar{J}_{i,j} = \frac{\partial M_{x_i}}{\partial \mu_{s_j}}, \quad \bar{J}_{i,j} = \frac{\partial \theta_{x_i}}{\partial (\mu_s)_j} \text{ and } \bar{J}_{i,j} = \frac{\partial \theta_{x_i}}{\partial (\mu_{ax-i})_j}$$

吸収度及び散乱マップに対する更新は、メリット関数 χ^2 を最小化するように行う。

$$\chi^2 = \frac{1}{n_s} \sum_{k=1}^{n_s} \sum_{i=1}^{n_d} \left(\frac{M_{x_{obs,i}} - M_{x,i}}{\sigma_M} \right)^2 + \left(\frac{\theta_{x_{obs,i}} - \theta_{x,i}}{\sigma_\theta} \right)^2 \quad (11)$$

ここで、 $n_s = S k$ 及び $n_d = D i$ である。

最初のマップを作成した後、指定した蛍光造影剤を導入し、式 (9) ~ (11)において μ_{ax-i} の代わりに μ_{ax} を代入することによって、全吸収係数 μ_{ax} を決定し、全吸収係数の第2マップを得る。 $\mu_{ax} = \mu_{ax...n} + \mu_{ax...c}$ 、及び蛍光造影剤の摂取は $\mu_{ax...c}$ に比例することがわかるので、摂取濃度は、第1及び第2マップ間の吸収係数の変動の差を算定することによって、マッピングすることができる。次いで、この「差分マップ」を用いて、摂取濃度に対応する画像を生成することができる。

別の代替実施形態では、多数の光源変調周波数の各々に応答する放出を測定する。用いた異なる周波数の全数を M で表すことにする。この追加データを得るために、各周波数 f 每に、ループ 220 を繰り返し実行し、そのインデックスを m とする。光源 $S k$ の数及び検出部位 $D i$ の数には、それぞれ、インデックス k 及び i を付す。この追加データを用いて、システム 110 によって得られる画像結果を改良し、評価における検出部位及び動起源部位の数を削減することができる。

(29)

特表2002-511778

きる。この追加データに対応する代表的なメリット関数は、以下の式(12)で与えられる。

$$\chi^2 = \frac{M_f}{(1/M_f) \sum_{m=1}^{M_f} \sum_{k=1}^{S_k} \sum_{l=1}^{D_l} \left[\frac{((M_{obs})_i - (M_m)_i) / \sigma_M}{\sigma_M} \right]^2 + \left[\frac{((\theta_{obs})_i - (\theta_m)_i) / \sigma_\theta}{\sigma_\theta} \right]^2} \quad (12)$$

蛍光収量及び寿命の他に、多周波数方法を用いて、他の光学的特性で関心のあるものをマッピングすることも可能である。正弦状変調光源以外にも、本発明は、代替実施形態では、パルス状又はその他の時間変動励起光源を用いて動作するよう適応させることも可能である。

図15は、本発明の別の実施形態の光学システム410を示す。このシステムは、レーザ・ドライバ422、該ドライバに結合されたレーザ・ダイオード424、及び、基準周波数発生器426を備えた、変調光源420を含む。光源420は、組織模型400に変調光を導出するように構成されており、模型からの放出光は、50mmレンズ432及びフィルタ433を通じて、利得変調画像拡大

器(intensifier)上で合焦する。フィルタ433は、選択した波長を分離するように選択された、バンドパス又はローパス構成とすればよい。典型的なフィルタ433は、少なくとも予測蛍光放出波長を通過させるように構成され、更に付加的又は代替的に、励起光波長を通過させるように構成してもよい。拡大器430は、光子を電子に変換するフォトカソード面、電子信号をアバランシェ増倍(avalanche multiplication)によって増倍するマルチ・チャネル・プレート(MCP)、及び電子を光学的画像に変換する輝光性スクリーンを含む。好ましくは、拡大器430は、Litton Electronics, Inc. (リットン・エレクトロニクス社)が製造する種々の高速拡大器の1つであり、フォトカソードとMCPとの間に、増幅器428からのDCバイアス及びRF信号を印加することによって、変調を可能にする。この例では、拡大器430からの画像の変調は、シンセサイザ426からの10MHz出力信号によって、レーザ・ダイオード424に位相ロックされる。レーザ・ダイオード424及び画像拡大器430を同一周波数で変調す

ることにより、対象状態の画像が発光性スクリーン上に得られる。Gratton et al. (グラットンその他) の米国特許第5, 213, 105号は、この技法のある態様に関する追加の背景を開示している。発光性スクリーンからの画像は、干渉フィルタ433を通過し、150-mmマクロ・レンズ436を介して電荷結合素子(CCD)カメラ434上に合焦する。カメラ434は、512×512アレイのCCD検出器を有し、対応する画素化画像を得るように構成されている。カメラ434は、前述のプロセッサ160と同様の構成のプロセッサ460に動作的に結合されている。

捕獲した画像毎に、プロセッサ460の制御の下で周波数シンセサイザ452によって、画像拡大器430の位相を0～360度の値の間で徐々に進めることにより、画像拡大器430とレーザ・ダイオード424との間に位相遅れを導入する。画像拡大器430及びレーザ・ダイオード424の利得変調は同一周波数で行われるので、ホモダイン処理の結果、拡大器430上に安定した発光性画像が得られる。これは位相によって左右される。好ましくは、シンセサイザ452とプロセッサ460との間の制御は、従来からの GPIB インターフェースによって得るようにする。次に、画像拡大器430の発光性スクリーンからの画像

は、各位相遅れ毎に集められる。次に、徐々に位相遅れが大きくなっていく画像を用いて、励起光と模型400からの放出光との間の位相シフト及び強度変調比のマップを作成する。干渉フィルタ又は適切な光学フィルタを適用することにより、放出光を、励起光から選択的に分離し、測定することができる。カメラ434の出力は、プロセス210を用いて、プロセッサ460によって処理することができる。

他の実施形態において、反射型構造(reflective geometry)でより大きくより均一な前面照明を偏えるためには、広い面積の照明源の方が好ましい。この照明手法により、多数の部分(sight)の高速化撮像、及び光子移動画像と病理学との間のより自然な物理的相関が容易に得られる。また、拡大器からCCDへの光の結合効率を高め、撮像装置の物理的小型軽量化を図るために、画像拡大器からCCDアレイまでテープ状の光ファイバ・カプラを有するカメラも考えられる。

(31)

特表2002-511778

次に、以下の具体的な例1～3を参照しながら、本発明について更に説明する。これらの例は、性質上、例示に過ぎず限定的なものではないことは理解されよう。例1～4は、プロセス210のコンピュータ・シミュレーションに関する。この種のシミュレーションは、組織のシミュレーションを含み、当業者に蛍光分光分析撮像の処理能力を実証する手段として、受け入れることができる。例1～3は、以下の表2の条件の下で、 θ_s 及び M_s について拡散方程式(1)及び(2)を解くことによって得られた、シミュレート値を用いる。

事例	$\mu_{s(x-c)}$ (mm ⁻¹)	$\mu_{s(m)}$ (mm ⁻¹)	$\mu_{s(x)}$ または $\mu_{s(m)}$ (mm ⁻¹)	τ (ns)	$\eta \mu_{s(x-m)}$ (背景) (mm ⁻¹)	AC強度 の対数における ガウス・ ノイズ σ_M	位相の θ (度)における ガウス・ ノイズ
5.1	0.0	0.0	1.0	10.0	1.0×10^{-3}	0.01	0.1
5.2	1.0×10^{-3}	0.0	1.0	10.0	1.0×10^{-3}	0.01	0.1
5.3	0.0	0.0	1.0	10.0	1.0×10^{-5}	0.01	1.0

表2

これらの例は、直径100mmの図3の組織模型300をシミュレートする。 θ_s 及び M_s の値は、周囲に配置された4つの変調光源S1～S4に応答して、図3のD1～D20検出部位の各々において計算した。励起光変調周波数 f は、150MHzでシミュレートした。拡散方程式(1)及び(2)を解いて、検出部位及び光源部位の様々な組み合わせ($S_k \cdot D_i = 4 \times 20 = 80$)に対応する、80個のシミュレート値を θ_s 及び M_s について求めた。標準偏差が θ_s において0、1度(又は約1度)、 M_s において1%のガウス・ノイズを、拡散方程式の解に重ね合わせた。適合化したMUDPACKルーチンを用いて、Sun Sparc10コンピュータ上で拡散方程式(1)及び(2)を解いた。これらの得られたデータ集合は、例1～3のためのプロセッサ210へのシミュレート入力データとして用いた。その結果を以下の表3及び表4に示す。

事例	面積、物体1 (mm ²)	位置、物体1 (x,y), (mm,mm)	面積、物体2 (mm ²)	位置、物体2 (x,y), (mm,mm)
5.1	706.0 (予測)	(60, 60) (予測)	適用不可	適用不可
	742.2 (取得)	(60.8, 58.8) (取得)		
5.2	706.0 (予測)	(60, 60) (予測)	適用不可	適用不可
	702.1 (取得)	(59.4, 58.8) (取得)		
5.3	314.1 (予測)	(32.3, 67.7) (予測)	314.1 (予測)	(67.7, 32.3) (予測)
	361.0 (取得)	(34.0, 67.7) (取得)	342.0 (取得)	(65.0, 35.0) (取得)

表3

事例	$\eta \mu_{\text{max}}$ (物体) (mm ⁻¹)	τ (物体) (ns)
5.1	1.0×10^{-3} (予測)	1.0 (予測)
	0.93×10^{-3} (取得)	1.03 (取得)
5.2	1.0×10^{-3} (予測)	1.0 (予測)
	0.8×10^{-3} (取得)	0.7 (取得)
5.3	(左上の物体) 1.0×10^{-3} (予測)	(左上の物体) 1.0 (予測)
	2×10^{-3} (取得)	4.1 (取得)
	(右下の物体) 2.0×10^{-3} (予測)	(右下の物体) 2.0 (予測)
	1.8×10^{-3} (取得)	3.5 (取得)

表4

例 1

例1は、非蛍光性発色団による吸収がない場合に、蛍光収量及び寿命を再生した。この例の実験データをシミュレートするために、背景及び異質部302に対する蛍光収量 ($\eta \mu_{\text{max}}$)₃₀₂を、それぞれ、 1×10^{-3} mm⁻¹及び 1×10^{-3} m⁻¹に選択し、背景及び異質部302に対する蛍光寿命 (τ)₃₀₂を、それぞれ、1.0 ns及び1 nsに選択した。ループ220の実行の間、異質部302の位置又は背景の蛍光特性のいずれについても先駆的知識を想定せずに、蛍光収量 ($\eta \mu_{\text{max}}$)₃₀₂及び寿命 (τ)₃₀₂それぞれに均一の推定値 1×10^{-3} mm⁻¹及び1.0 nsを与えた。二次元の17x17格子では、ループ220の50回未満の繰り返しで (SunSparc10上で計算時間: 2時間)、収束が得られた。シミュレート

した物体が占める格子点における、 $\eta \mu_{\text{max}}$ 及び τ の平均値は、50回以内の繰り返しの間に、 $\eta \mu_{\text{max}} = 0.93 \times 10^{-3} \text{ mm}^{-1}$ 及び $\tau = 1.03 \text{ ns}$ に収束した。これは、それぞれ、図8及び図9に示す通りである。図10及び図11は、 $\eta \mu_{\text{max}}$ [mm⁻¹] 及び τ [ns] のマッピングした値からそれぞれ再生した画像を示す。これらは予測画像を表す。画像は、例1～3における補間によって平滑化し、非物理的に高い値を有するが、物理的に達成可能な範囲以内の値で埋まっていた疑似点を除去した。これら疑似値は、ループ220のシミュレーションから得られた、平均背景蛍光吸収量及び寿命で置換した。

シミュレートした背景が占める格子点における $\eta \mu_{\text{max}}$ の平均値は、50回以内の繰り返しの間に、 $9 \times 10^{-3} \text{ mm}^{-1}$ に収束した。背景の値は 5.4 ns に収束した。初期推定の選択に対する最終画像の依存性について、 $(\eta \mu_{\text{max}})$ 及び寿命 (τ) について均一の初期推定値、 $1 \times 10^{-4} \text{ mm}^{-1}$ 及び 10 ns を与えることによって試験した。その結果、図10及び図11に得られた画像と同様の画像となった。

異質部302の位置は、 $\eta \mu_{\text{max}}$ のピーク値の35%（任意に選択した）よりも高い $\eta \mu_{\text{max}}$ を有する全格子点で構成されたものとして識別した（図10）。識別された物体の格子点全ての座標の平均は、位置（60, 8, 58, 5）であり、実験データをシミュレートするために用いた位置（60, 60）に近い。表3に纏めたように、我々の識別に対する任意の定義に基づく異質部の面積は、

7

2 mm²であり、我々のシミュレートした実験データを発生するために用いたものに近い。

例 2

例2は、組織を模擬するように構成し、シミュレートした発色団吸収度によって、発光吸収量及び寿命を再生した。均一な背景発色団吸収係数、 $\mu_{\text{ext}} = 1.0 \times 10^{-3} \text{ mm}^{-1}$ を用いて、シミュレートした実験データを発生したこと以外は、例1に記載したのと同じ纏めた異質部ならびに光学パラメータ及びシミュレーション機器を用いた。画像再生に励起光伝搬を用いなかつたが、この光学特性は、生理学

的条件下における逆画像再生では、できるだけ高い処理能力が期待できることで知られている点を考慮した。蛍光収量 ($\eta_{\mu\text{ax-}s}$) ; [mm⁻¹] 及び寿命 (τ) ; [ns] の二次元再生空間マップを、それぞれ、図1.2及び図1.3に示す。表3に示したように、 $\eta_{\mu\text{ax-}s}$ に基づく我々の基準による物体の位置の平均値は、位置 (5.9, 4, 5.8, 3) として得られ、実験データをシミュレートするために用いた条件と一貫性がある。識別に対する我々の任意の定義に基づく異質部の寸法 (全格子点の $\eta_{\mu\text{ax-}s}$ が最大値の35%よりも大きい) は7.03mm²であり、我々のシミュレートした実験データを発生するために用いたものと近い。シミュレートした物体が占める格子点における $\eta_{\mu\text{ax-}s}$ 及び τ の平均値は、50回以内の繰り返しの間に、 $\eta_{\mu\text{ax-}s} = 0.8 \times 10^{-3}$ mm⁻¹及び $\tau = 0.7$ nsに収束し、シミュレートした実験データを発生するために用いた値と一貫性がある (表3を参照のこと)。シミュレートした背景が占める格子点における $\eta_{\mu\text{ax-}s}$ 及び τ の平均値は、例1について報告した値と同様の値に、50回以内の繰り返しの間に収束した。

例 3

例3は、組織模型における2つの隠れた異質部をシミュレートした (図3には示されていない)。この場合、物体1及び2に対する蛍光収量 $\eta_{\mu\text{ax-}s}$ を 1×10^{-3} mm⁻¹及び 2×10^{-3} mm⁻¹にそれぞれ選択し、これらの異質部に対する寿命 τ を1ns及び2nsにそれぞれ選択したことを除いて、例1において記載した光学パラメータと同じものを用いた。17×17格子の代わりに、33×33格子を用いた。収量のマッピングに対応する画像を、図1.4に示す。

例 4

例4は、質問光子の平均飛行時間の長さ程度以内の蛍光寿命を有する蛍光造影剤を利用することによる、予期しなかった利点を示す。この例は、計算によるシミュレーションによって、寿命が約1ミリ秒の蛍光剤によって得られるコントラストを、寿命が約1ナノ秒の蛍光剤と比較した。図1.6を参照して、このシミュレーションは、異質部502が埋め込まれた円形の組織模型500を想定する。単一の光源S1が示され、検出器D1~D11が、ほぼ等間隔で、円形の周辺に

沿って約半分にわたって離間されている。この比較のために、異質部及びその周囲双方に対して、 $\phi r = 1$ とする。異質部の攝取は、周囲（背景）の 100 倍であると想定して、対応する蛍光体の吸収係数は、異質部では 0.1 cm^{-1} に設定し、一方周囲では 0.001 cm^{-1} に設定した。非蛍光性発色団に対する吸収係数は、異質部及び周囲ともに 0.001 cm^{-1} に設定した。図 17 A のグラフは、位相シフト（縦軸）の測定値と、組織模型 500 の周囲に沿った検出器の角度位置（横軸）との関係を表す。白い記号のある線は、寿命が 1 ns の造影剤の、検出器位置による位相シフトの変動、及び造影剤を含む異質部の位置の変化を示す（異なる形状の白い記号）。黒い記号は、異質部内の寿命が 1 ms の造影剤についての、位相シフト対検出器の位置の関係に対応する。図 17 B のグラフは、これらの造影剤を、変調（縦軸）対検出器の角度位置（横軸）の関係について、及び造影剤を含む異質部の位置（異なる形状の白い記号）について比較する。これらの図は、寿命が長くなる程、造影剤の空間的な相違に対する感度が減少することを示し、更に、多様散乱光の挙動に基づく撮像に対して、光子の移動時間（即ち、飛行時間）の長さ程度以内の内因性緩和運動 (intrinsic relaxation kinetics) (蛍光寿命によって特徴化される) を伴う蛍光造影剤の開発を指摘する。

図 18 A 及び図 18 B は、同じ模型組織及びパラメータを用いた計算によるシミュレーションであり、検出器の位置及び対応する造影剤に対して選択性のある異質部の位置の関数として、1 ns 及び 1 ms の寿命を比較するものである。図 18 A 及び図 18 B の縦軸は、位相差 $\Delta \theta$ を表す。位相差 $\Delta \theta$ は、異質部がある場合の位相シフトと、異質部がない場合の位相シフトとの間の差である ($\Delta \theta = \theta_{\text{presence}} - \theta_{\text{absence}}$)。図 18 C 及び図 18 D は、図 18 A 及び図 18 B

と同じ模型組織及びパラメータを用いた、計算によるシミュレーションであり、同じ造影剤の寿命を、変調比 ΔM (縦軸) に関して比較したものである。変調比 ΔM は、異質部がある場合の検出光の変調比率 (AC/DC) の、異質部がない場合の検出光の変調比率 (AC/DC) の比率として示す ($\Delta M = M_{\text{presence}} / M_{\text{absence}}$)。図 18 A ~ 図 18 C の全てについて、縦軸は検出器の数に対応し、異なる線の形状は、造影剤を内包する異質部の異なる位置に対応する。

例 5

例4のシミュレーションの結論を、更に例5の実験によって、経験的に実証した。例5に対する実験機器の設定は、システム110と同等である。組織模型を準備するに当たり、直徑20cm及び高さ30.5cmの円筒状プレキシグラス(Plexiglas)容器に、0.5%のイントラリピド溶液(Instalipid solution)(N.C.、ClaytonのKabi Parmacia(カビ・ファルマシア社)によって供給されている)を充填する。内径9mmの円筒形ガラス容器を、プレキシグラス容器内に入れ、ガラス円筒をイントラリピド溶液及び造影剤で満たすことにより、異質部を形成した。Plexiglas容器内の異質部の位置は、C.A.、IrvineのNewport(ニューポート社)によって供給されている、x-y変換ステージ、型番PMC200-Pを用いて調節した。

例5は、内部のガラス容器(図19B)内のRu(bpy)₃²⁺蛍光性造影剤による位相差△θを、内側ガラス容器内の蛍光造影剤、インドシアニン・グリーン(IGC: indocyanine Green)(N.J.、FairlawnのACROS Organics(アクロス・オーガニックス社)によって供給されている)と比較することによって、例4においてシミュレートした位相差を実験的に確認したものである。100:1の攝取(uptake)率をシミュレートするために、造影剤を内部ガラス容器(「異質部」)内のイントラリピド溶液に添加した。Ru(bpy)₃²⁺はミリ秒単位の寿命を有する。IGCの寿命は、約0.58nsである。図19A及び図19Bを比較することにより、検出器数(横軸)及び異質部の位置(異なる形状の線)の関数として、寿命が短い蛍光剤によって得られる位相差(縦軸)は、寿命の長い蛍光性造影剤Ru(bpy)₃²⁺によって得られる位相差よりも確かに大きいことに気が付かれよう。

例 6

例6に設定した実験機器は、単一光源及び単一検出点を用いたことを除いて、例5と同等である。光源及び検出器は、円周に沿って、数度離して配置し、内部容器は、概略的に、光源と検出器との間に定義された中線に沿って配置した。x-yステージを用いて、この中線に沿った内部容器の位置を調節し、位相シフト

θ 及び振幅の対応する変化を観察した。

例 6 では、2つの異なる蛍光造影剤 ICG 及び 3-3' ジエチルシアトリカルボンアミン・ロデイド (3-3'-Diethylthiatricarbocyanine Iodide) (ここでは「DTTC I」と呼ぶことにする。NJ, Fairlawn, ACROS Organics によって供給されている) の、波長が約 780 nm の強度変調励起光に対する応答を検出した。異なる記号形状の線に対応する異なる試行において、80 MHz 及び 160 MHz で励起光を変調した。ICG は、肝臓及び網膜の診断検査に承認された造影剤であり、その寿命は約 0.58 ナノ秒と測定された。DTTC I は一般的なレーザー色素 (laser dye) であり、その寿命は約 1.18 ナノ秒である。

異質部のない組織模型の位相シフト及び変調比率を測定し、位相差 $\Delta \theta$ 及び変調比 ΔM を計算するために必要な、「不在」ケースを得た。次に、濃度が約 2.0 μ mole の ICG を、内部容器内の 0.5% イントラリビド溶液に添加することによって、ICG 造影剤を調合した。次に、ICG サンプルを光源からの励起光に露出させ、応答を検出した。この検出は、780 nm の波長における吸収度及び 830 nm における蛍光度の測定を含んだ。ICG サンプルに対する、吸収波長 (オープン記号) 及び蛍光波長 (クローズ記号) において得られた位相差 $\Delta \theta$ を、図 20 A に示すグラフの縦軸にプロットした。横軸は、中線に沿って検出器と光源に向かって移動させた際の、異質部 (「物体」) の相対位置をセンチメートル単位で示す。ICG サンプルに対して、吸収波長 (白い記号) 及び蛍光波長 (黒い記号) において得られた変調比 ΔM を、図 20 B に示すグラフの縦軸にプロットした。横軸は、中線に沿って検出器と光源に向かって移動させた際の、物体の相対位置をセンチメートル単位で示す。

ICG サンプルを検査した後、濃度 4.2 μ mole の DTTC I 造影剤を、内部容器内の 0.5% イントラリビド溶液に添加し、DTTC I サンプ

ルを作成した。ICG サンプル及び DTTC I サンプル双方に対してほぼ同一の蛍光断面が得られるように、異なる濃度の ICG 及び DTTC I 造影剤を選択した。DTTC I サンプルに対して、吸収波長 (オープン記号) 及び蛍光波長 (クローズ記号) において得られた位相差 $\Delta \theta$ を、図 20 C に示すグラフの縦軸にブ

ロットした。横軸は、中線に沿って検出器と光源に向かって移動させた際の、物体の相対位置をセンチメートル単位で示す。DTTCIサンプルに対して、吸収波長（オープン記号）及び蛍光波長（クローズ記号）において得られた変調比 ΔM を、図20Cに示すグラフの縦軸にプロットした。横軸は、中線に沿って検出器と光源に向かって移動させた際の、物体の相対位置をセンチメートル単位で示す。

双方のサンプルに対して、蛍光減衰プロセスは、単一指数的であり、1つの寿命を示している。しかしながら、この分析及び手法は、寿命が1つよりも多い色素及び造影剤にも拡張することができる。2つの蛍光造影剤によって発生した蛍光位相及び振幅変調を比較すれば、蛍光寿命 τ の吸収に対する影響を容易に観察することができる。実際に、損失が周囲即ち背景に対して10:1のみの場合、著しいコントラストが現れることがわかる。

例 7

例7では、組織を模擬したイントラリビド溶液をプレキシグラス容器に入れることによって、模型組織を用意した。励起光源は、後ろ側から、約8センチメートルの直線距離に沿って、組織模型を照射した。画像拡大器/CCD検出構成を利用して、応答を検出した。例7の実験設定は、図15に示したシステム410と同等とした。

プレキシグラス容器の組織模型の中央に埋め込んだのは、各々異なる蛍光造影剤を有する、別個の容器内にある2つの0.5mLのマイクロモラー・イントラリビド溶液(micromolar intralipid solution)とした。一方のベッセルはICG造影剤を含み、他方のベッセルはDTTCI造影剤を含ませた。模型組織の前面にわたって、780nmの100MHz変調励起光に応答した蛍光位相シフト、AC振幅、DC強度、及び変調(AC/DC)の測定を行った。図21A～図21Dは、位相シフト、AC振幅、DC強度、及び変調測定の、対応するグレース

ルに関する、空間変動をそれぞれ示す二元画像である。これらの画像によつて、蛍光寿命及び測定したパラメータの相違に対する変動が確認できる。

例 8

例 8 は、犬、即ち、小型のブードルであるシュガー・リンバーグ (Sugar Lemburg) の乳房組織の生体組織の研究である (年 10 才、体重 12.5 ポンド)。5% 濃度の ICG 蛍光造影剤 1.3 cc を生体に注入した後、右 5 番目の乳腺の生体画像を撮影した。例 7 に相当する実験設定によって、インターロゲーションを行った。励起光の波長は 789 nm、検出は 830 nm 波長で行った。変調周波数は、100 MHz であった。

右 5 番目の乳房の凍結部分によって、組織表面から約 1 cm の深さの所に 2 つの黒い点が発見された。これは、組織学的に、転移性拡張の明証のない、反応領域鼠径リンパ節 (reactive regional inguinal lymph node) として分類された。残りの組織は、腫瘍の明証のない、小葉肥厚として分類された。図 22 A ~ 図 22 D は、対応するグレー・スケールに対して、それぞれ、変調位相、変調率、平均強度、及び変調振幅について、放出光からの生体測定に関する空間変動を示す二次元画像である。図 22 A ~ 図 22 D の画像における白線は、空気-組織境界である。組織内の位相シフトは、存在する乳房組織が少量であるために小さくなっている。また、変調比は、大量の背景ノイズを含む。しかしながら、平均強度及び変調振幅双方の下部における 2 つの明るい点は、拡大したリンパ組織内部への ICG 摂取増大に対応するものと考えられる。

本明細書において引用した全ての刊行物及び特許出願は、個々の刊行物又は特許出願の各々があたかも具体的にかつ個別に言及によって本願にも含まれていることを示されたと同等に、その言及により本願にも含まれているものとする。その中には、1997年2月7日出願の米国特許出願第60/039,318号、及び1996年8月23日出願の第08/702,060号が含まれる。以上、図面及び前述の説明において本発明を詳細に図示しつつ記載したが、これは、その性格上限定ではなく例示として見なすべきであり、ここでは好適な実施形態を示したに過ぎず、本発明の精神に該当する全ての変更が保護対象となるよう望むことは理解されよう。

(40)

特表2002-511778

[図1]

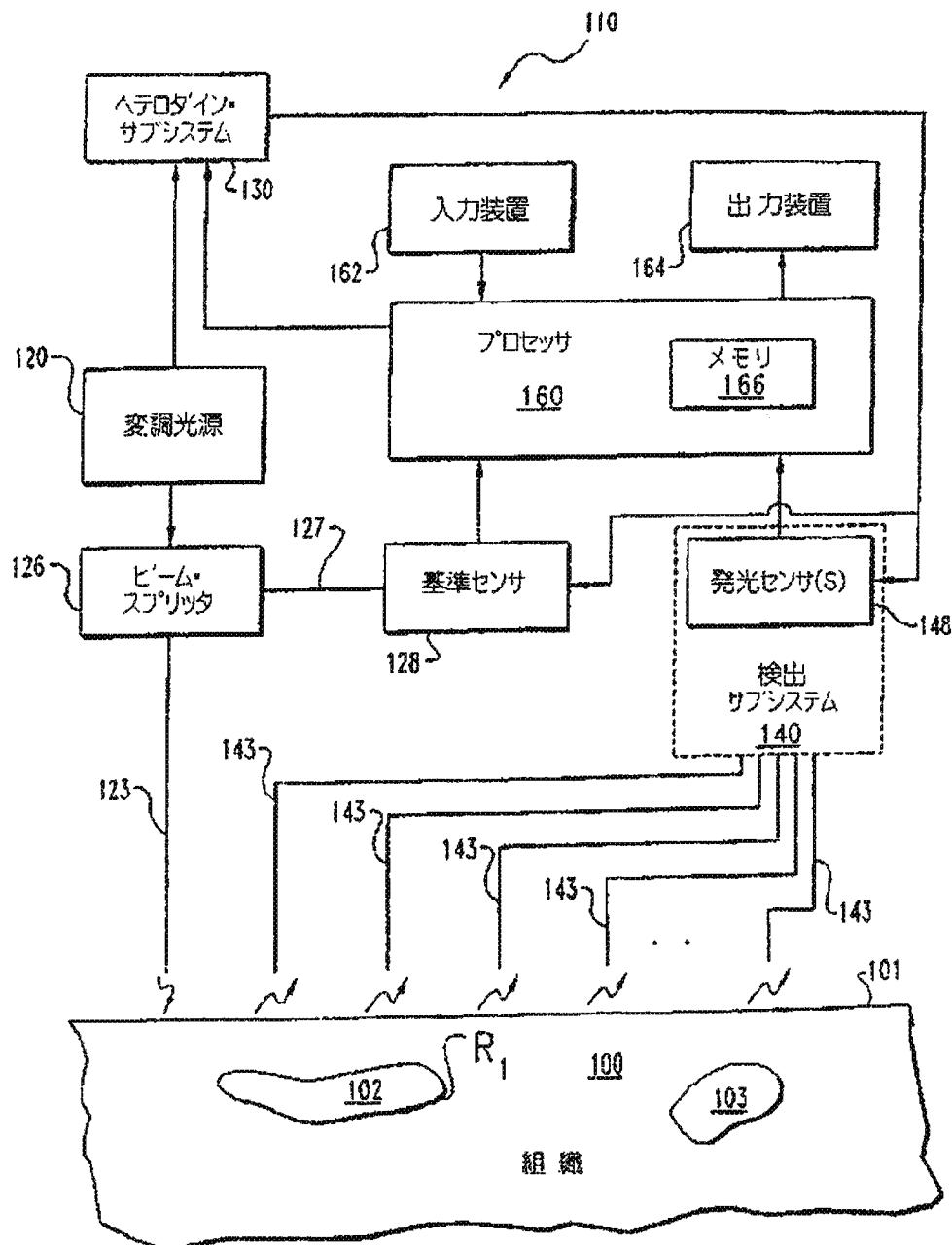


図 1

(41)

特表2002-511778

【図2】

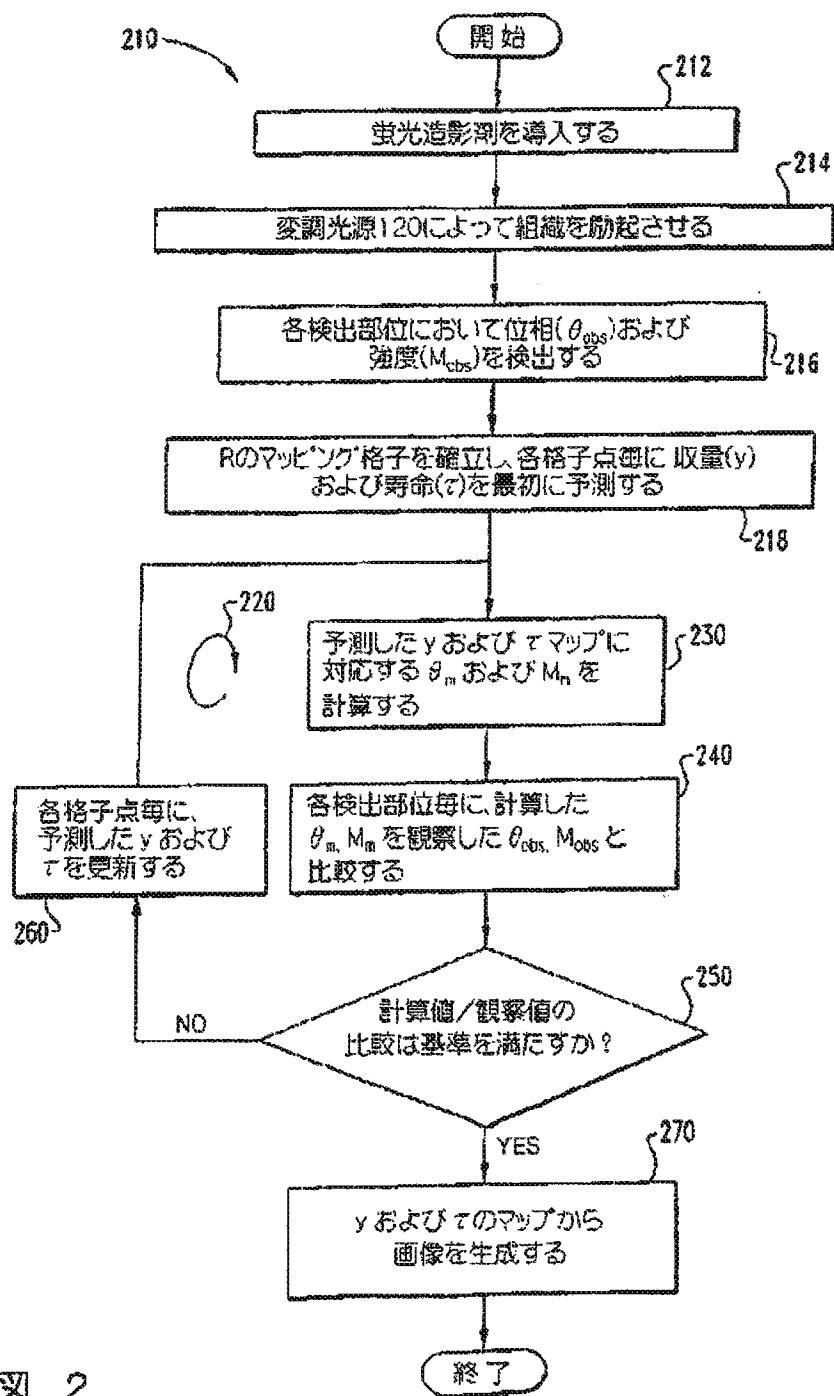


図 2

(42)

特表2002-511778

【図3】

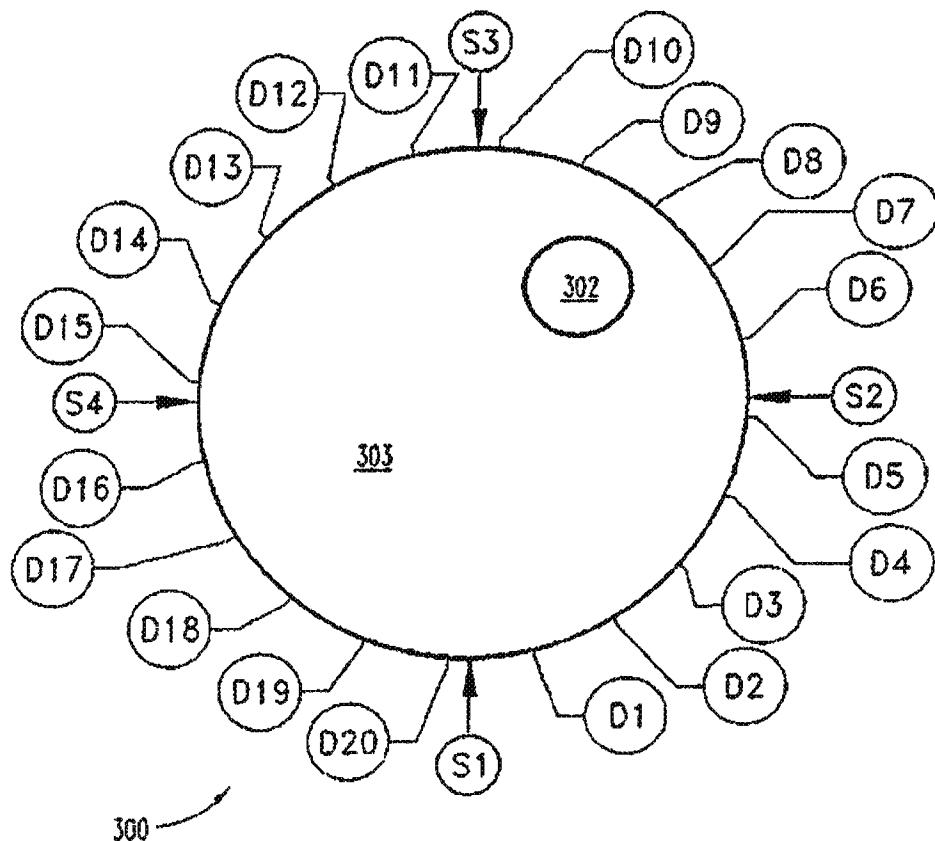
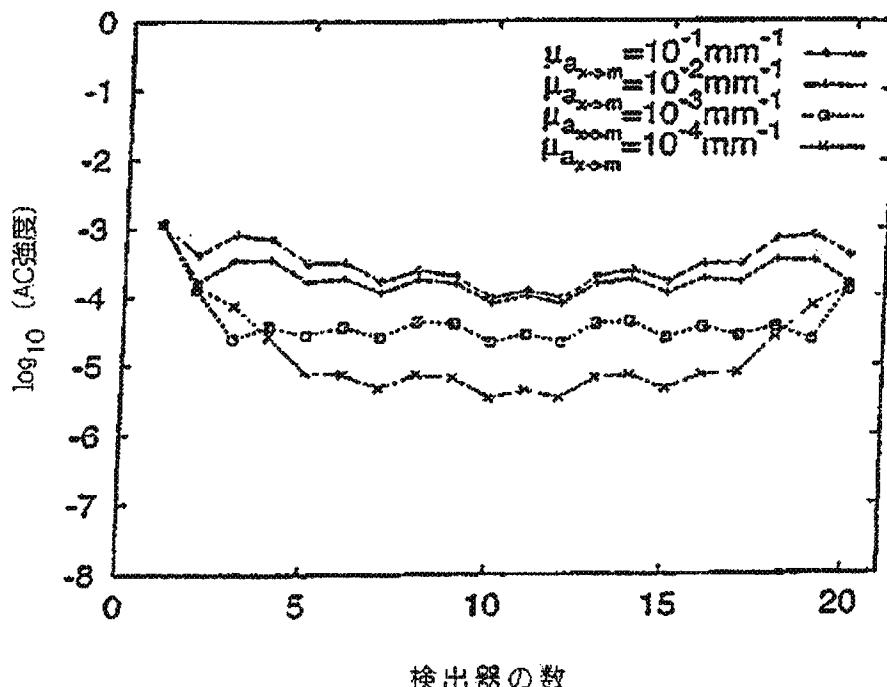


図 3

(43)

特表2002-511778

【図4】



検出器の数

図 4

(44)

特表2002-511778

【図5】

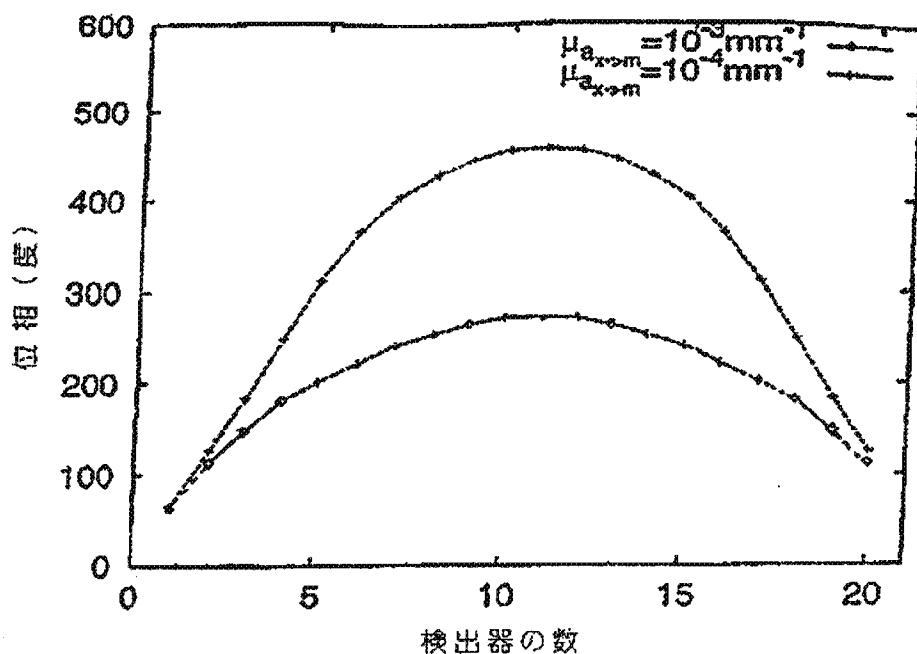


図 5

(45)

特表2002-511778

【図6】

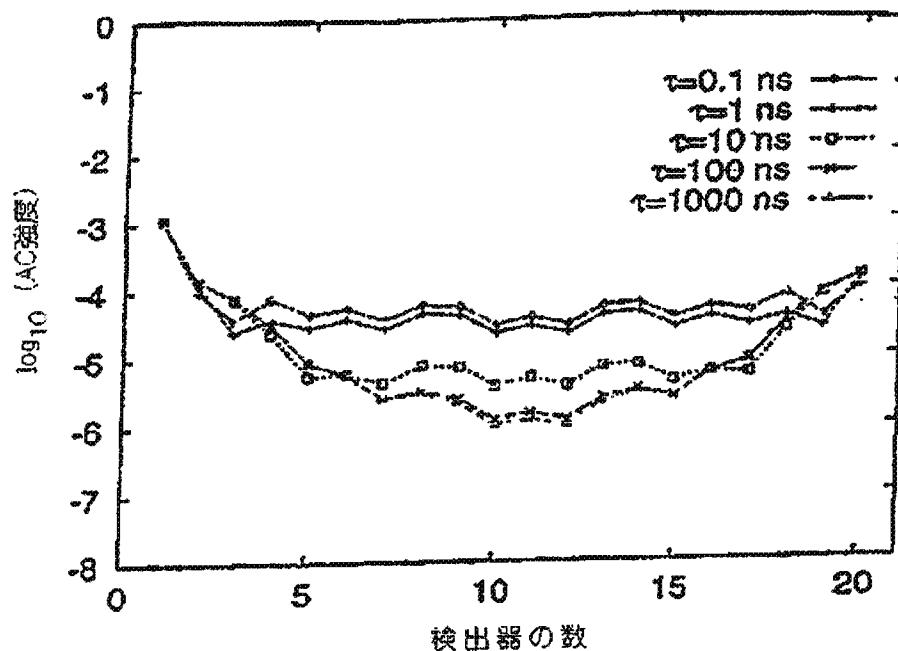


図 6

(46)

特表2002-511778

【図7】

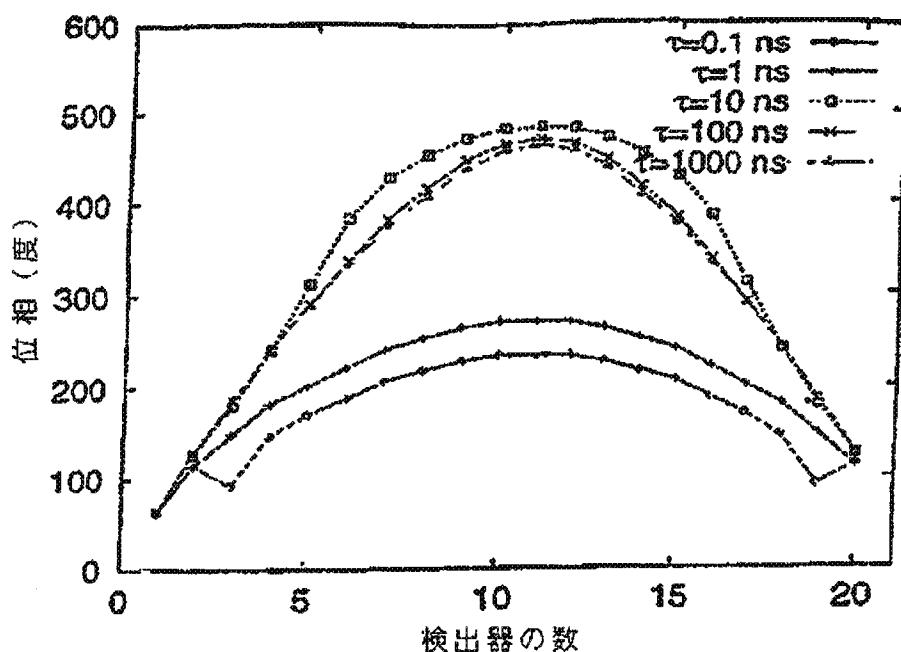


図 7

(47)

特表2002-511778

[図 8]

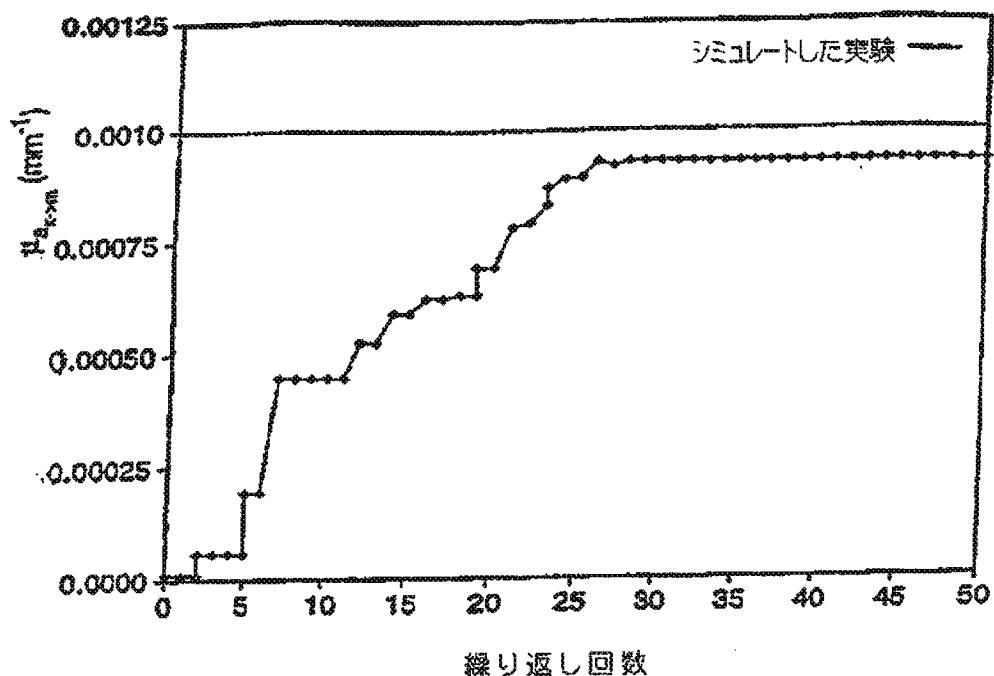


図 8

(48)

特表2002-511778

[図9]

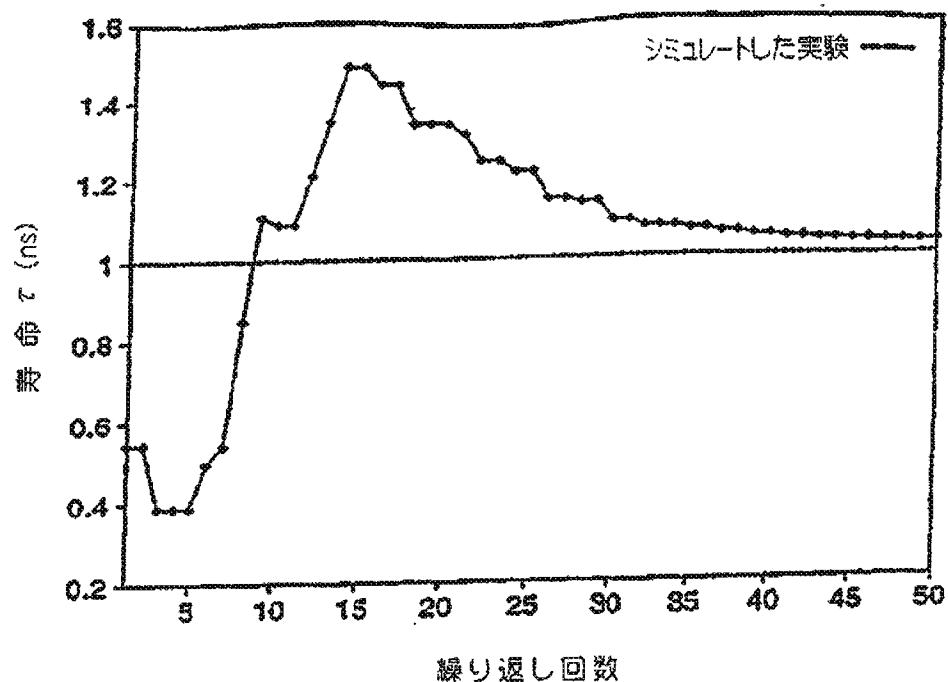


図 9

(49)

特表2002-511778

[図10]

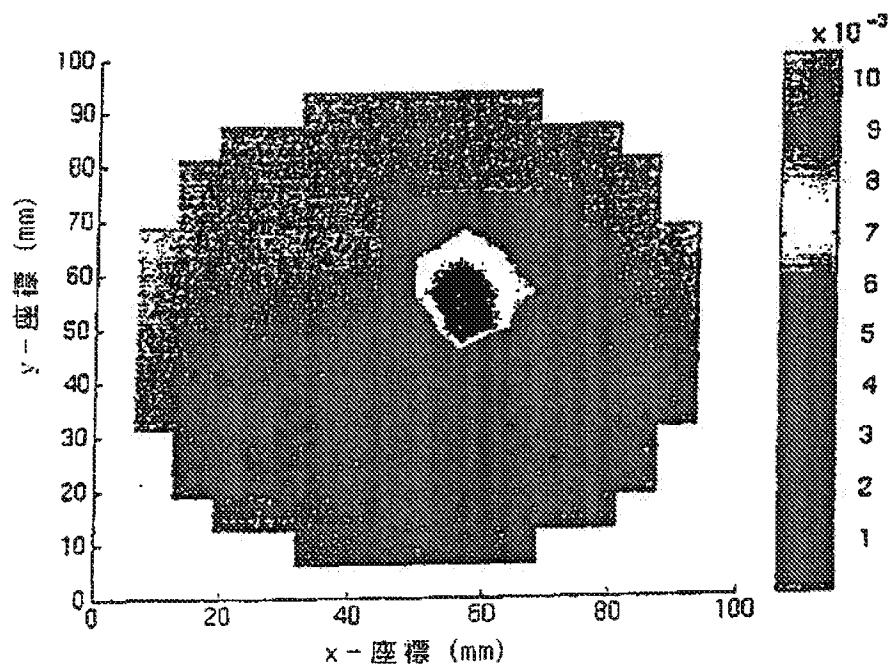


図 10

(50)

特表2002-511778

【図11】

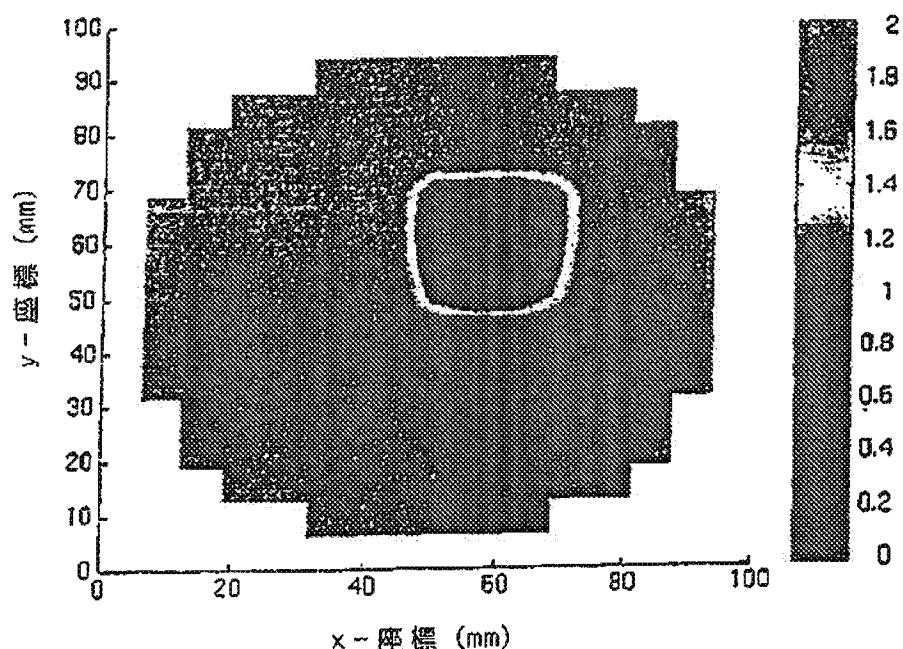


図 11

(51)

特表2002-511778

【図12】

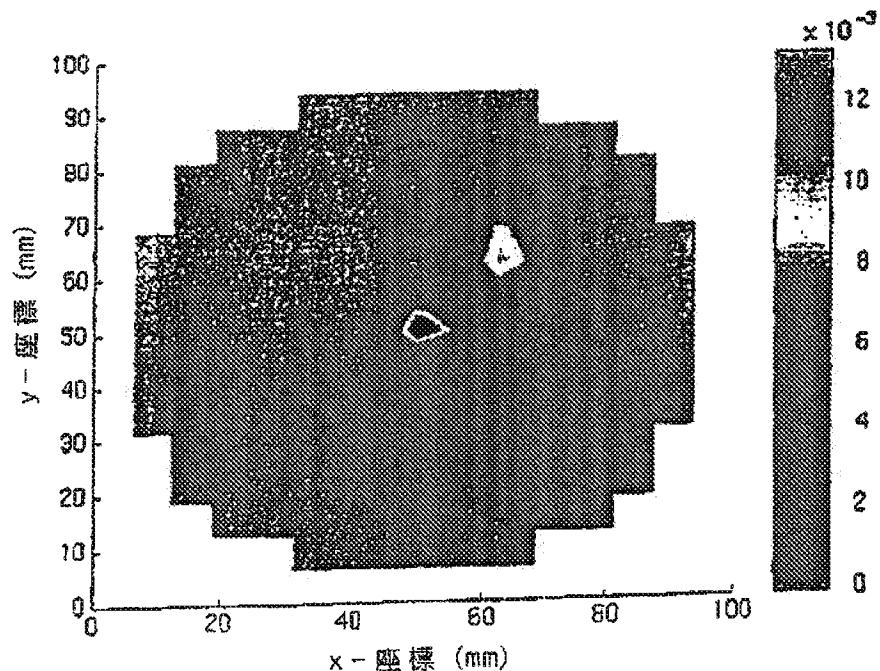


図 12

(52)

特表2002-511778

[図13]

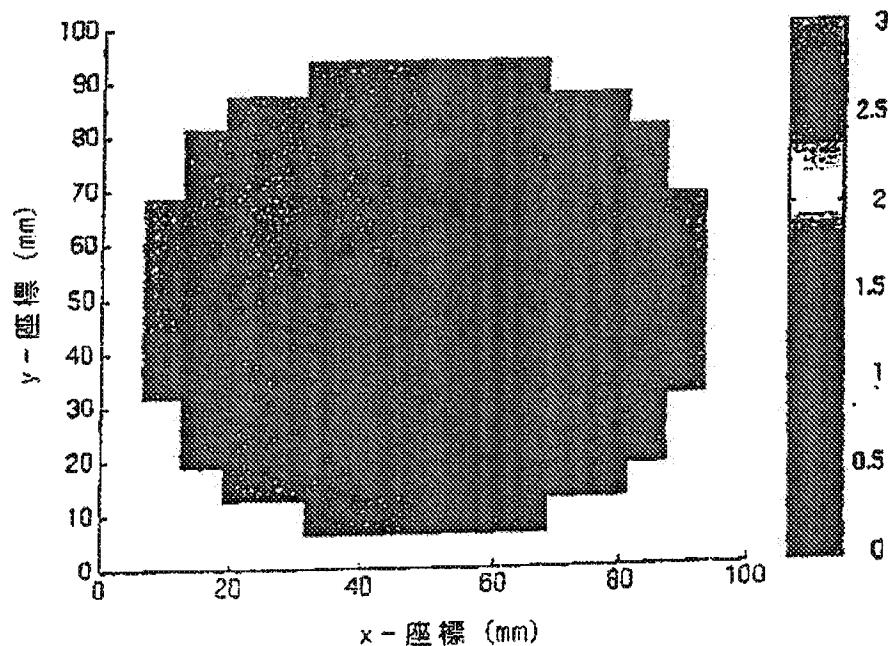


図 13

(33)

特表2002-511778

[図 14]

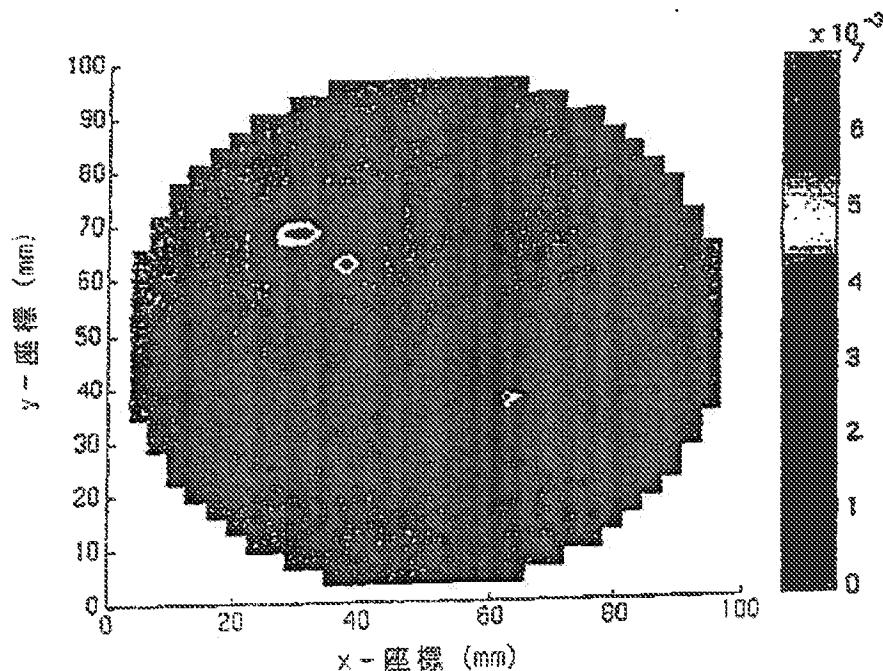


図 14

(54)

特表2002-511778

【図15】

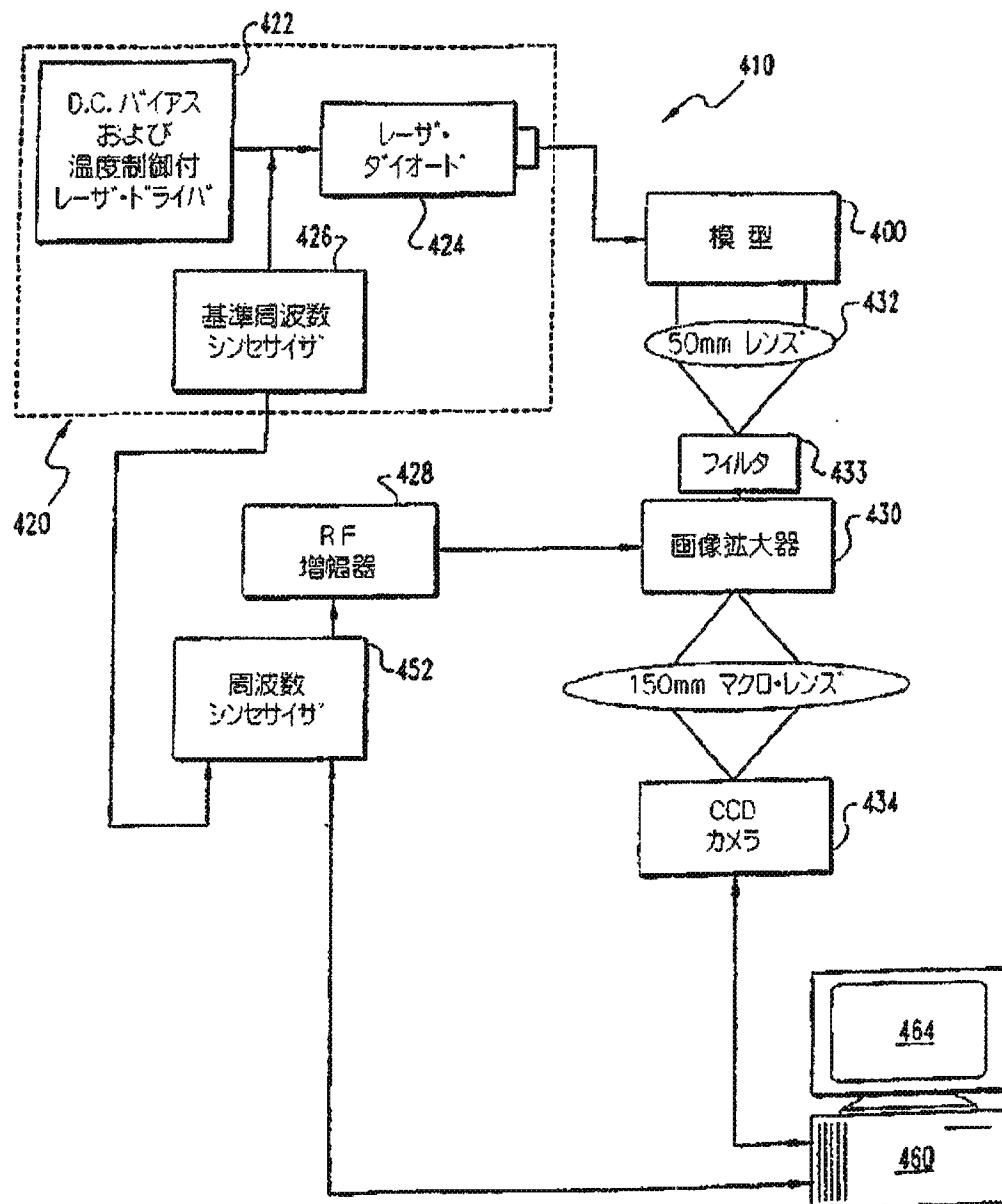


図 15

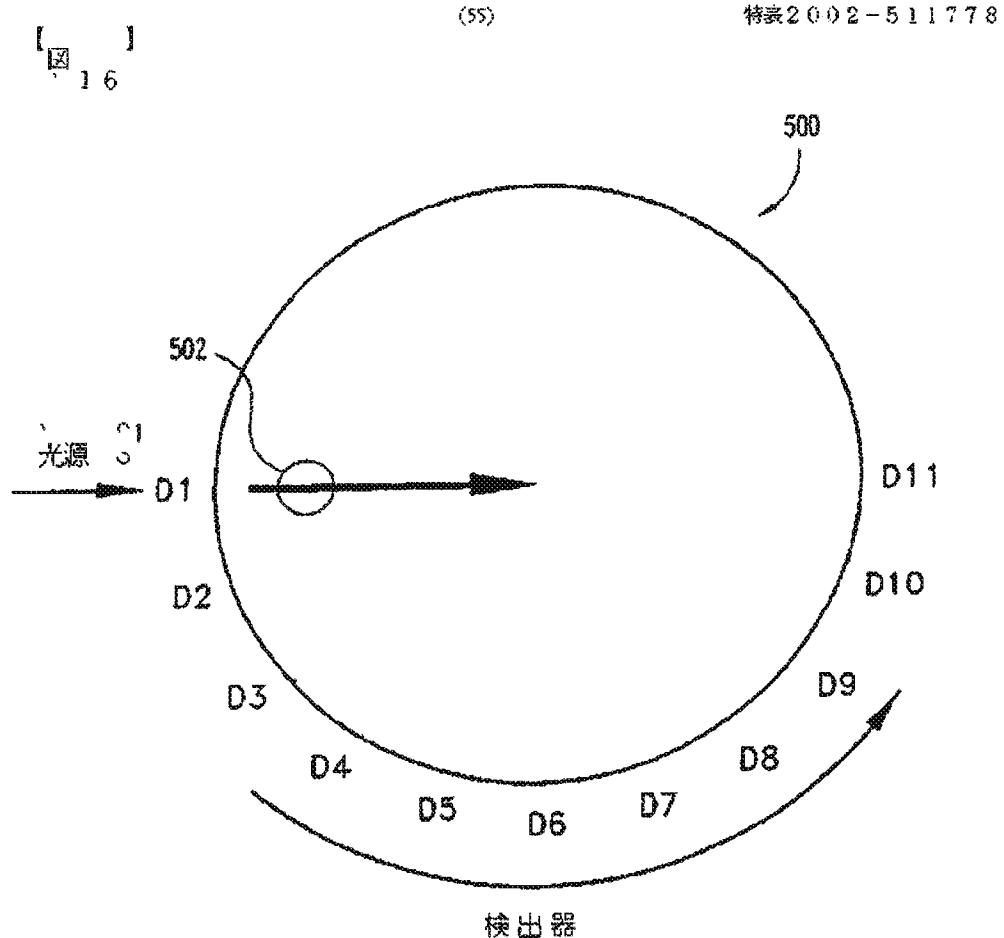


図 16

(56)

特表2002-511778

【図17】

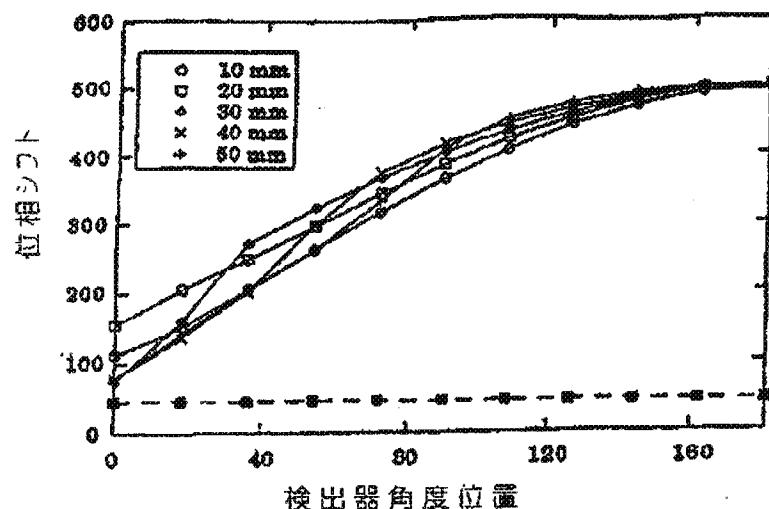


図 17A

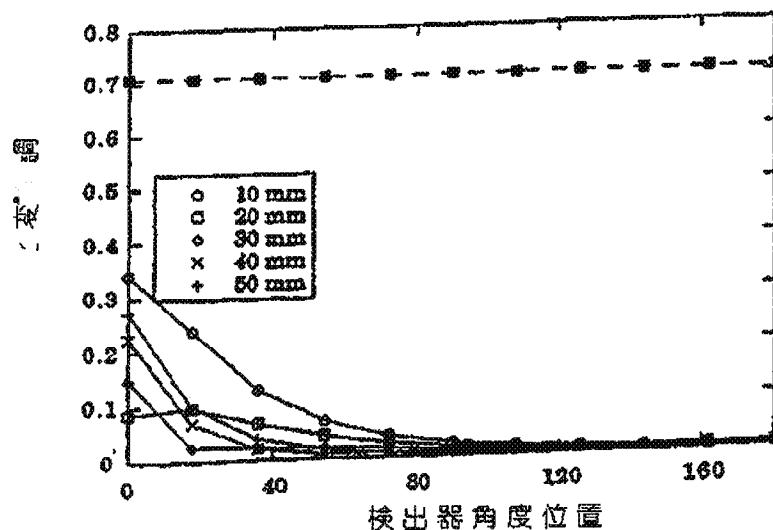


図 17B

(57)

特表2002-511778

【図18】

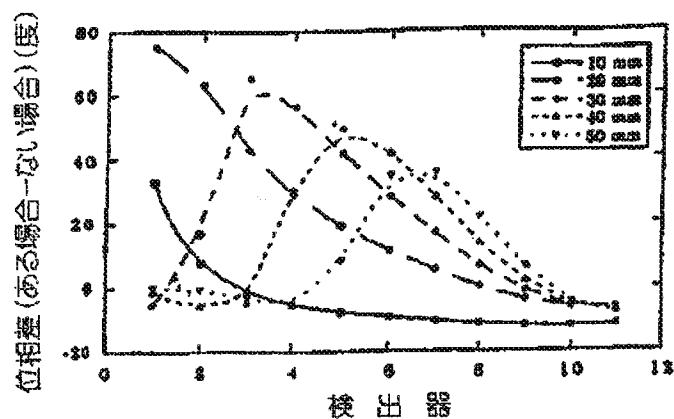


図 18A

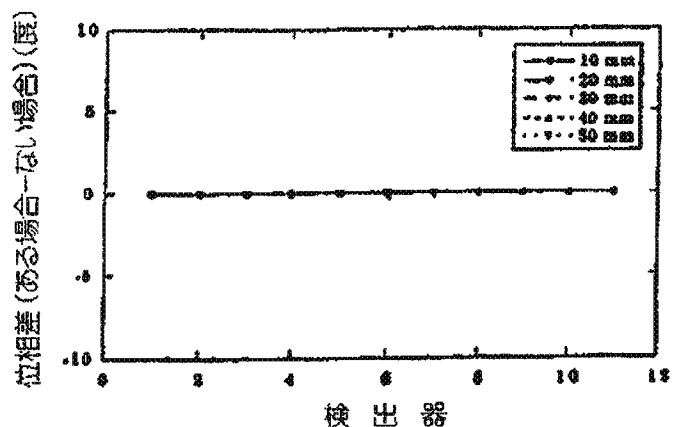


図 18B

(58)

特表2002-511778

【図18】

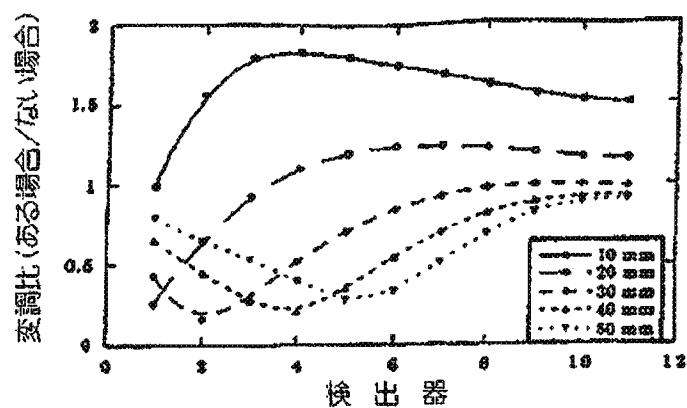


図 18C

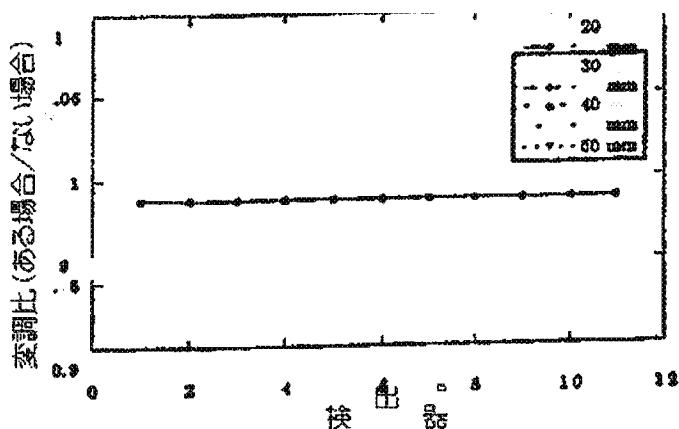


図 18D

(59)

特表2002-511778

【図19】

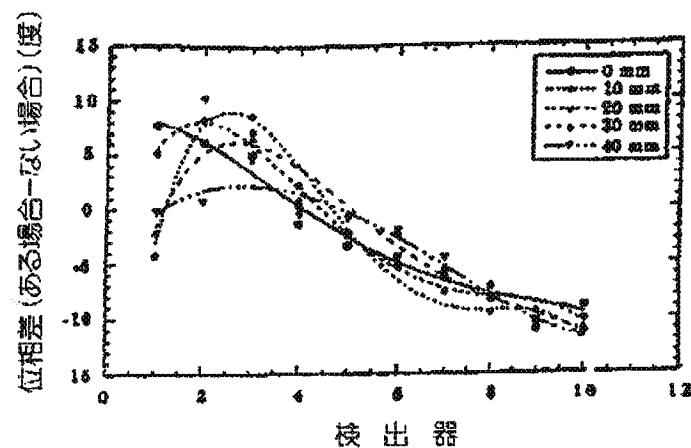


図 19A

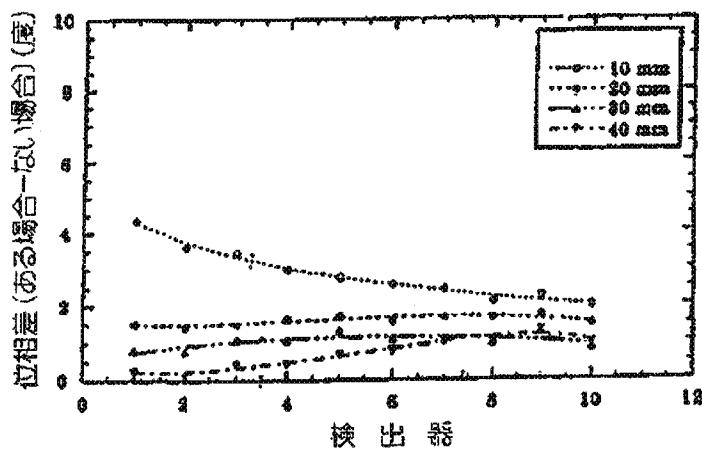


図 19B

(60)

特表2002-511778

【図20】

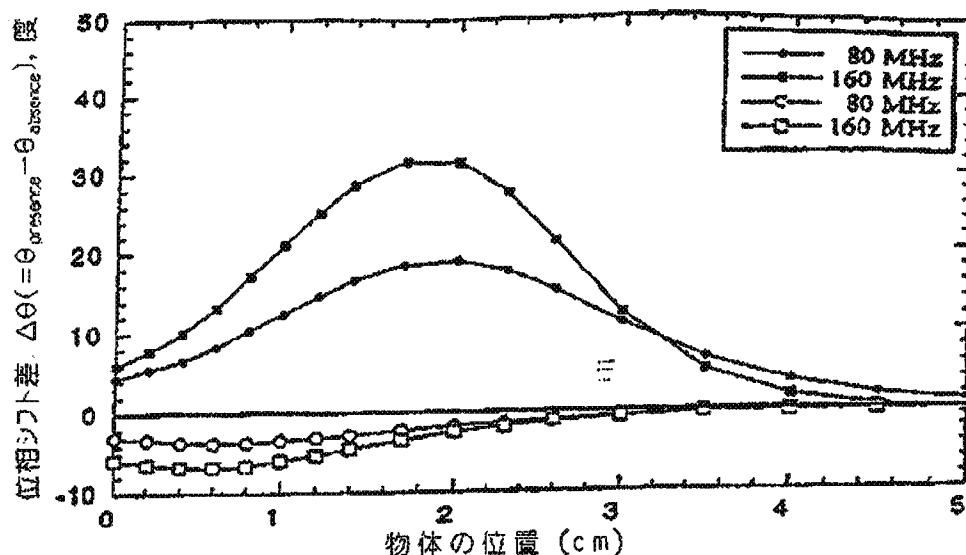


図 20A

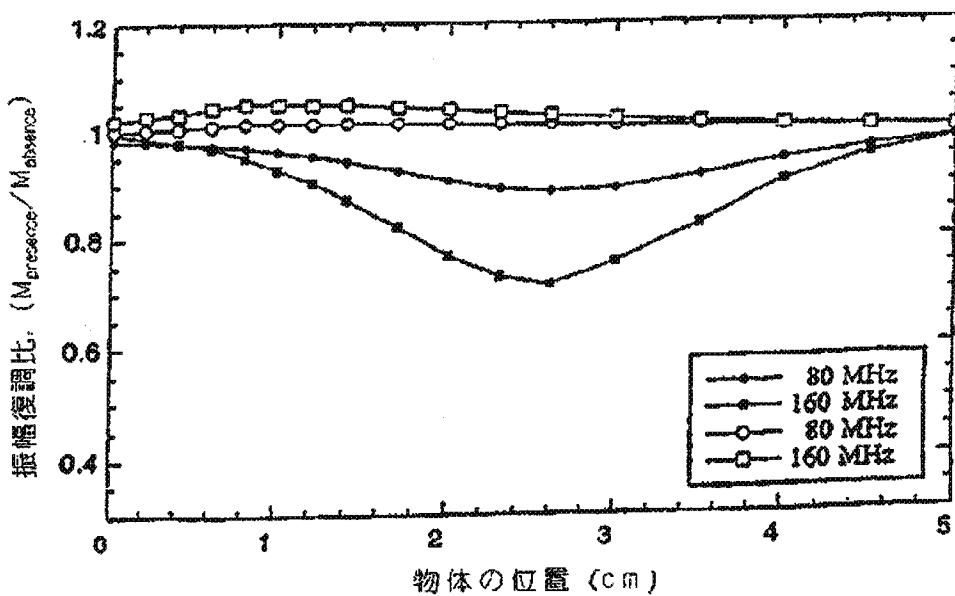


図 20B

(61)

特表2002-511778

【図20】

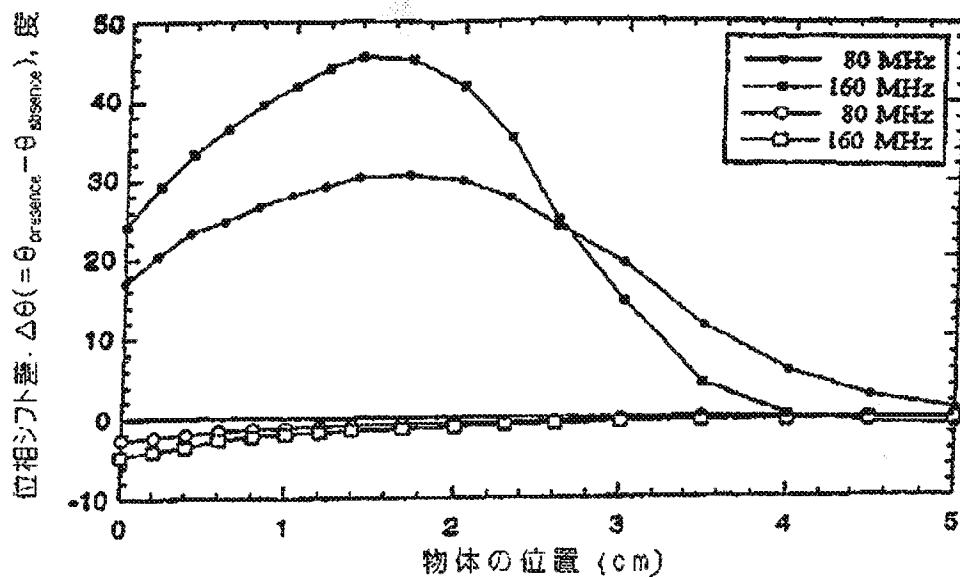


図 20C

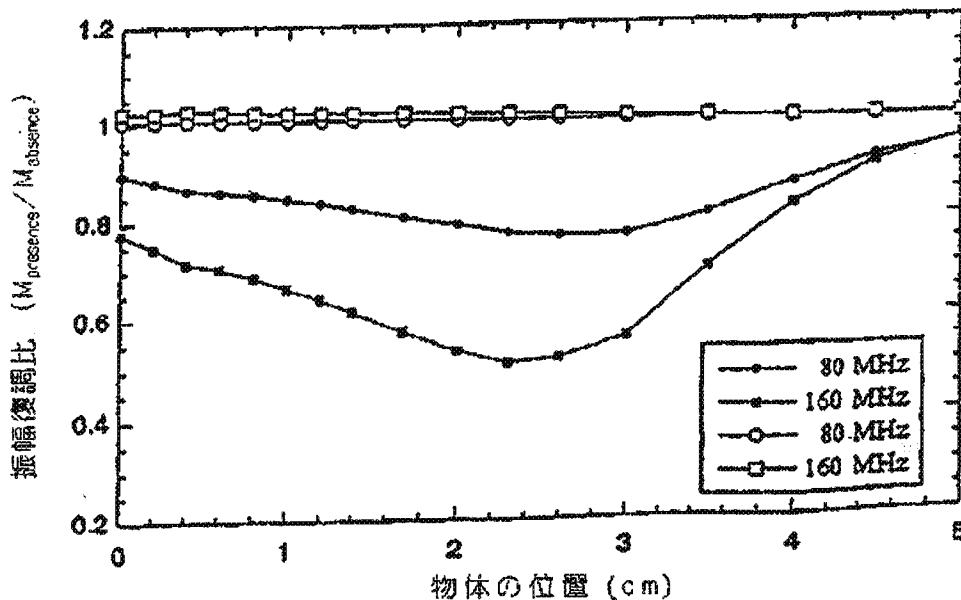


図 20D

(62)

特表2002-511778

[図21]

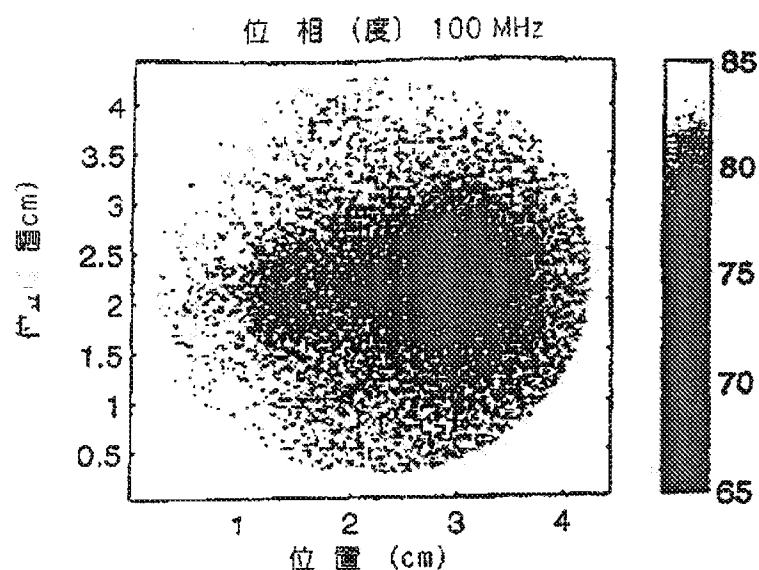


図 21A

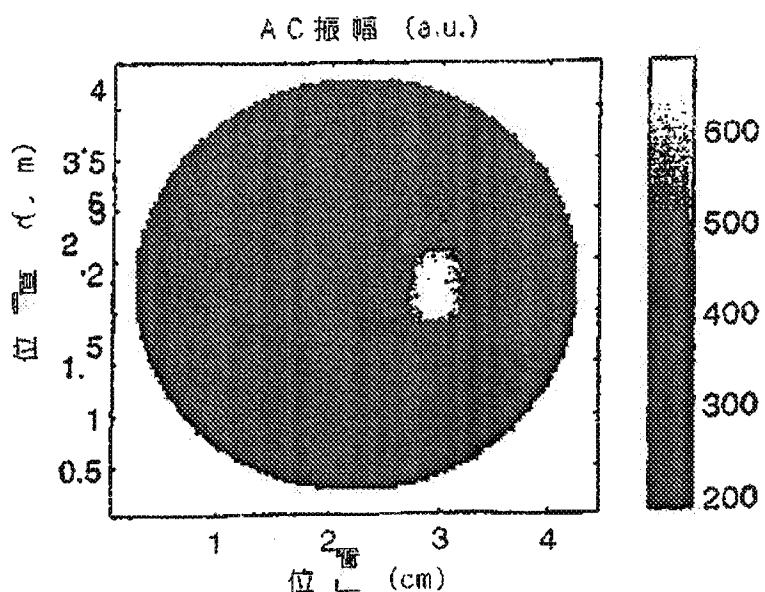


図 21B

(63)

特表2002-511778

[図21]

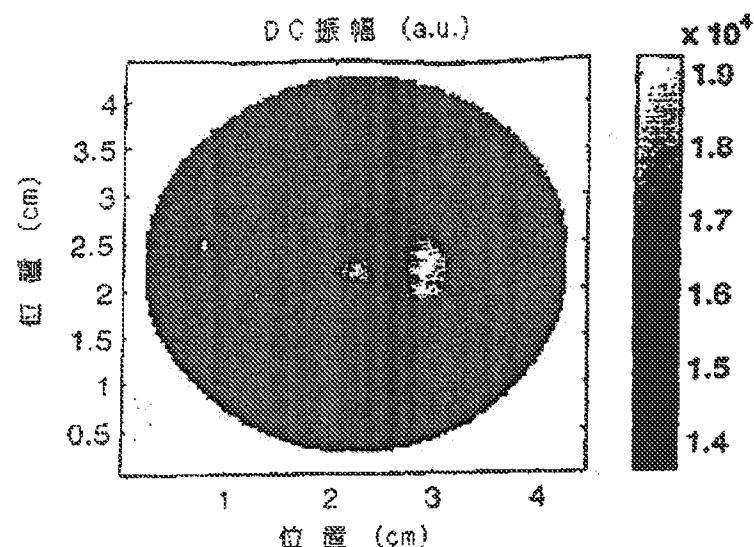


図 21C

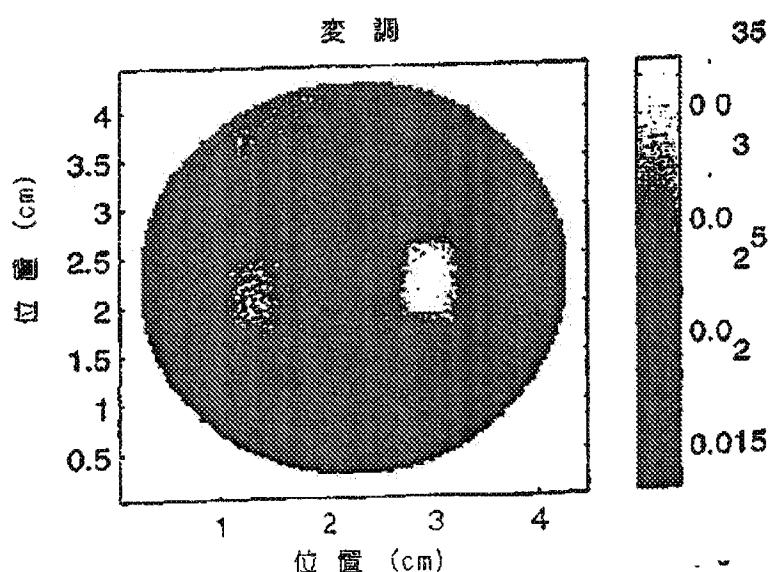


図 21D

(64)

特表2002-511778

【図22】

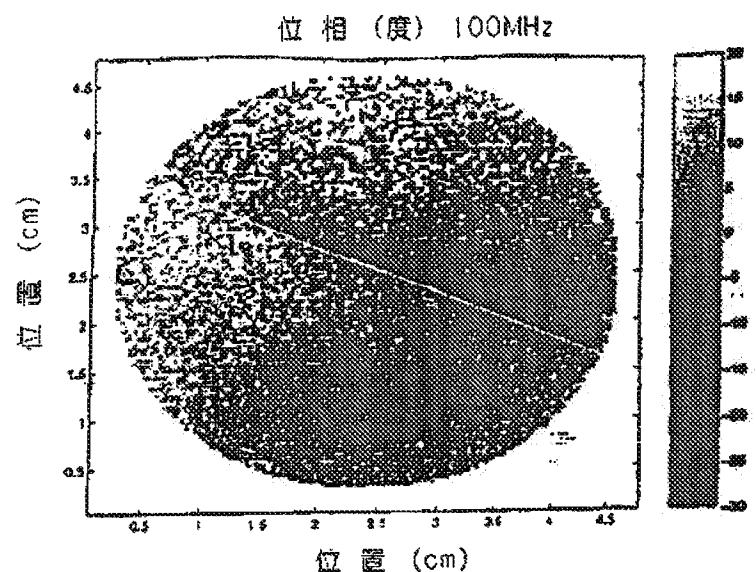


図 22A

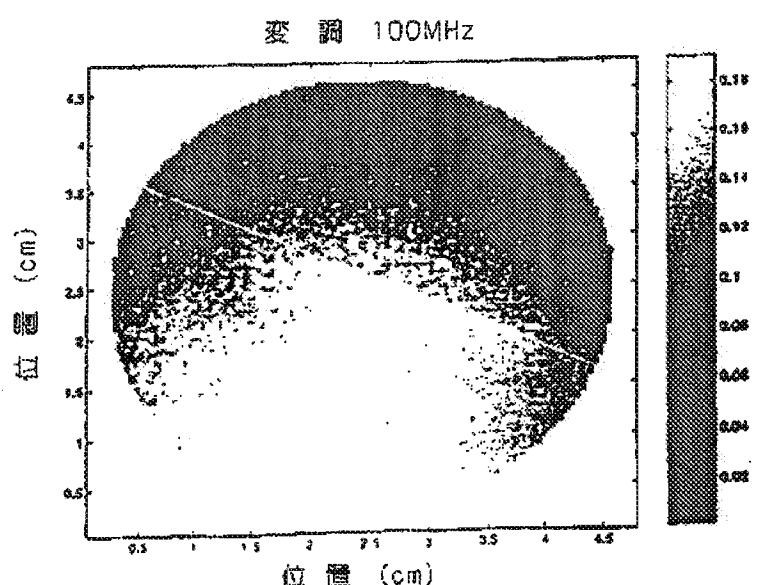


図 22B

(65)

特表2002-511778

【図22】

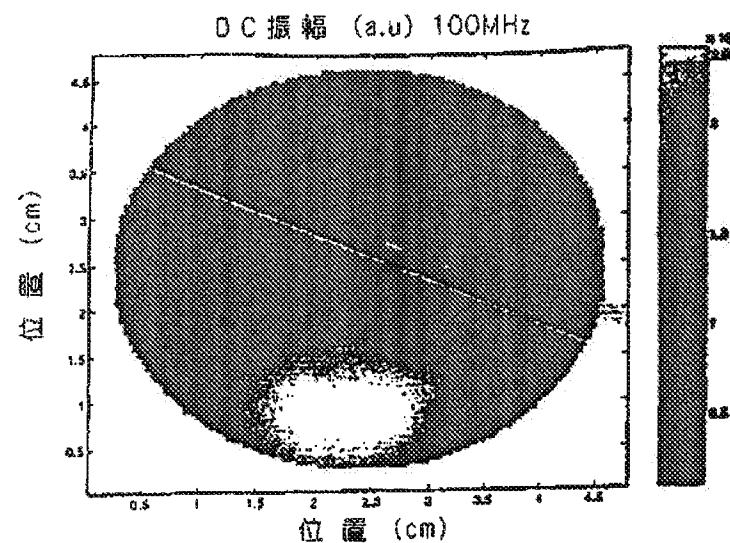


図 22C

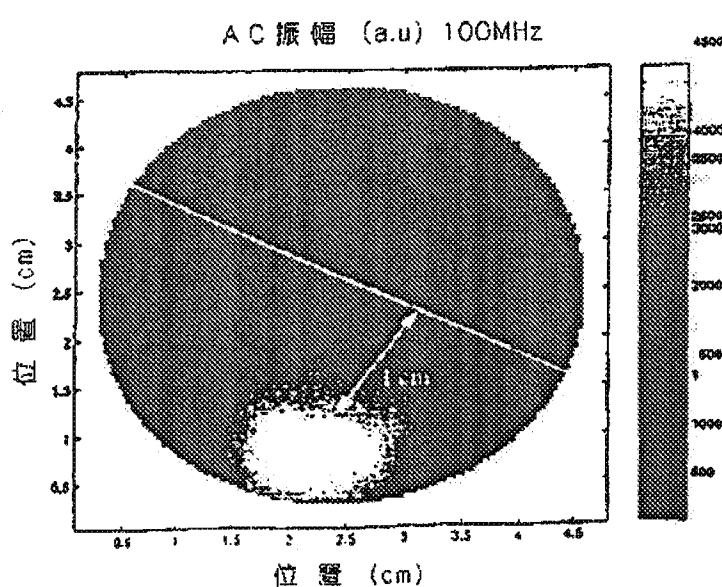


図 22D

(66)

特表2002-511778

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US98/02364

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC(6) : A61B 3/00 US CL : 600/476 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 366/317, 318; 600/473, 476		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5,579,773 A (VO-DINH et al) 03 December 1996, entire document.	1-17
A	US 5,142,372 A (ALFANO et al) 25 August 1992, entire document.	1-17
A	US 5,590,660 A (MACAULAY et al) 07 January 1997, entire document.	1-17
A	US 5,421,339 A (RAMANUJAM et al) 06 June 1995, entire document.	1-17
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* General category of cited documents		*Y* later documents published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
A documents defining the general area of the art which is not considered to be of particular relevance		*X* documents of particular relevance; the claimed invention cannot be considered as of practical benefit to be considered to involve an undue step when the document is taken alone
B earlier document published on or after the international filing date		*Y* documents of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an undue step when the document is taken alone
C documents which may throw doubt on priority claim(s) or which is used to establish the publication date of another claimed or other prior art		*Y* documents of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an undue step when the document is combined with one or more other such documents, with combination being obvious to a person skilled in the art
D documents relating to an oral disclosure, use, exhibition or other events		*P* document number of the same patent family
E documents published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 06 APRIL 1998		Date of mailing of the international search report 29 APR 1998
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 308-3590		Authorized Officer ELENI MANTIS MERCADER Telephone No. (703) 308-0899

Form PCT/ISA/210 (second sheet)(July 1992) a

(62)

特表2002-511778

フロントページの続き

(81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW

(72) 発明者 セヴィックームラカ, エヴァ
アメリカ合衆国インディアナ州47905, ラ
ファイエット, イースト 100 ノース
7650

(72) 発明者 トロイ, タマラ・エル
アメリカ合衆国インディアナ州47905, ウ
エスト・ラファイエット, ソルジャー・
ホーム・ロード 2601 ナンバー 100